

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 724 731**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.05.2013 PCT/EP2013/059073**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.11.2013 WO13164375**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.05.2013 E 13721650 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.03.2019 EP 2844274**

54 Título: **Composición farmacéutica**

30 Prioridad:

**01.05.2012 EP 12166252  
01.05.2012 EP 12166251  
02.05.2012 US 201261641540 P  
02.05.2012 US 201261641544 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**13.09.2019**

73 Titular/es:

**NOVO NORDISK A/S (100.0%)  
Novo Allé  
2880 Bagsværd, DK**

72 Inventor/es:

**JOHANSEN, THUE;  
MERSEBACH, HENRIETTE;  
AXELSEN, MADS y  
LANGE, MARTIN**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 724 731 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

Composición farmacéutica

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica y a un esquema de administración novedoso.

Antecedentes de la invención

10 La diabetes mellitus frecuentemente requiere tratamiento con insulina para establecer un control metabólico adecuado (que comprende principalmente el control de la glucemia, pero otros parámetros metabólicos también se benefician del tratamiento con insulina). La práctica establecida del tratamiento con insulina es administrar el producto de insulina con una frecuencia de una o más veces al día, opcionalmente en combinación con otras  
15 modalidades de tratamiento, como se describe en las directrices de tratamiento disponibles. La infusión intravenosa y subcutánea de insulina también se usa en la práctica clínica.

Una opción de tratamiento con insulina ampliamente usada es administrar un producto de insulina de acción prolongada, también denominada insulina basal, para cubrir total o parcialmente la necesidad de insulina del  
20 paciente. La insulina de acción prolongada se administra con una frecuencia de una o más veces al día, a la misma hora cada día, y se usa tanto en la diabetes tipo 1 como en la diabetes tipo 2 así como también para otras formas de estados patológicos que requieren insulina (hiperglucemia de cualquier causa).

Actualmente, el tratamiento de la diabetes, tanto de la diabetes tipo 1 como la diabetes tipo 2, depende en una  
25 medida creciente del llamado tratamiento intensivo con insulina. De acuerdo con este régimen, los pacientes se tratan con múltiples inyecciones de insulina al día que comprenden una o dos inyecciones al día de una insulina de acción prolongada, proporcionadas a la misma hora cada día, para cubrir el requerimiento de insulina basal suplementada por inyecciones en bolo de una insulina de acción rápida para cubrir el requerimiento de insulina  
30 relacionado con las comidas.

La práctica actual en el control de la diabetes y la hiperglucemia se expone, por ejemplo, en:

- Grupo de trabajo sobre Directrices clínicas de la IDF. Directriz para el control de la glucosa postprandial. Bruselas: Federación Internacional de Diabetes, 2007, [http://www.idf.org/webdata/docs/Guideline PMG final.pdf](http://www.idf.org/webdata/docs/Guideline_PMG_final.pdf)  
35 - S. E. Inzucchi, R. M. Bergenstal, J. B. Buse, M. Diamant, E. Ferrannini, M. Nauck, A. L. Peters, A. Tsapas, R. Wender, y D. R. Matthews. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Patient-Centered Approach: Position Statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Diabetes Care, 2012.

40 Las reseñas relacionadas con análogos de insulina basal y sus características y uso clínico actual pueden encontrarse, por ejemplo, en:

- T. Heise y T. R. Pieber. Towards peakless, reproducible and long-acting insulins. An assessment of the basal analogues based on isoglycaemic clamp studies. Diabetes Obes Metab 9 (5):648-659, 2007, y  
45 - A. H. Barnett. A review of basal insulins. Diabet Med 20 (11):873-885, 2003.

La insulina humana tiene tres grupos amino primarios: el grupo N-terminal de la cadena A y de la cadena B y el grupo  $\epsilon$ -amino de la Lys<sup>B29</sup>. Varios derivados de insulina que se sustituyen en uno o más de estos grupos se conocen en el estado de la técnica.

Además, las composiciones de insulina de acción prolongada se conocen en la técnica. Un tipo principal de composiciones de insulina de acción prolongada comprende suspensiones acuosas inyectables de cristales de insulina o insulina amorfa. En estas composiciones, los compuestos de insulina utilizados típicamente son insulina  
55 protamina, insulina con zinc o insulina protamina con zinc.

El documento WO 2005/012347 (Novo Nordisk A/S) describe derivados de insulina acilada que comprenden una carga negativa adicional en comparación con las insulinas aciladas descritas en el documento WO 95/07931. La formulación farmacéutica de estas insulinas aciladas se proporciona como 2, 3 o 4 átomos de zinc por hexámero de insulina.  
60

El documento WO 2010/049488 describe un derivado de insulina para el tratamiento de una afección o enfermedad donde la administración de insulina será beneficiosa, que comprende administrar, a un paciente que lo necesita, dosis eficaces del derivado de insulina, en donde dicho derivado de insulina exhibe un perfil de acción prolongado y en donde dichas dosis se administran a intervalos mayores que 24 horas.  
65

## Descripción de la invención

La presente invención se basa en el sorprendente hallazgo de que es posible tratar una afección o una enfermedad donde la administración de insulina sería beneficiosa, tal como la diabetes o hiperglucemia, mediante la administración de una combinación farmacéutica que comprende compuestos de tipo insulina que actúan de manera diferente en un evento particular en el día. Con respecto a esto, la combinación se administra en la comida más grande del día para dicho sujeto.

De acuerdo con la presente invención, la combinación comprende al menos un primer compuesto de tipo insulina y un segundo compuesto de tipo insulina para tratar la diabetes tipo 1 o tipo 2 en un sujeto que lo necesita donde la administración de insulina sería beneficiosa para dicho sujeto; en donde dicho primer compuesto de tipo insulina es la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) y dicho segundo compuesto de tipo insulina es la insulina humana Asp<sup>B28</sup>; en donde dicha combinación se administra una vez al día en una cantidad para lograr un control beneficioso de la glucemia en dicho sujeto como se determina por los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto después de la administración una vez al día de dicha combinación en la comida más grande del día para dicho sujeto; en donde dicho control beneficioso de la glucemia por dicha combinación comprende disminuir los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto a 7,0 % o menos después de la administración de dicha combinación en la comida más grande del día.

El término "compuesto de tipo insulina" incluye insulinas de origen natural, análogos de insulina, derivados de insulina y miméticos de insulina. En ocasiones los compuestos de tipo insulina se denominan "compuestos de insulina", o similares.

El término "administración de dicha combinación en la comida más grande del día para dicho sujeto" significa que la combinación se administra durante o alrededor de - típicamente desde un poco antes, tal como aproximadamente 30 minutos antes, o hasta un poco después, tal como aproximadamente 30 minutos después - de la comida más grande del día en un período de más de un día. Como se usa en la presente descripción, "en", "con" o "con relación a" la comida más grande del día incluye igualmente "durante" la comida en sí, así como también un corto tiempo antes y después de dicha comida, por ejemplo, hasta aproximadamente 30 minutos antes de la primera ingesta de alimento y hasta aproximadamente 30 minutos después de la última ingesta de alimento de dicha comida. En otras palabras, y por ejemplo, la combinación se administra durante o alrededor de (típicamente desde un poco antes, tal como aproximadamente 30 minutos antes, o hasta un poco después, tal como aproximadamente 30 minutos después) de la comida más grande del día durante cada día (o al menos sustancialmente cada día) durante un período de al menos aproximadamente 1 semana, o al menos aproximadamente 2 semanas, o al menos aproximadamente 3 semanas, o al menos aproximadamente 4 semanas, o al menos aproximadamente 5 semanas, o al menos aproximadamente 6 semanas, o al menos aproximadamente 7 semanas, o al menos aproximadamente 8 semanas, o al menos aproximadamente 9 semanas, o al menos aproximadamente 10 semanas, o al menos aproximadamente 15 semanas, o al menos aproximadamente 20 semanas, o al menos aproximadamente 25 semanas, o incluso más.

En un aspecto, dicho paciente determina cuál es la comida más grande del día. En un aspecto, dicho paciente recibe instrucciones para determinar cuál comida es la comida más grande del día. La comida más grande del día no es necesariamente la misma comida para cada paciente, es decir, no es a la misma hora del día. Puede variar de un paciente a otro, por ejemplo, en dependencia del estilo de vida, la cultura, las limitaciones de tiempo de los pacientes, por ejemplo, debido al trabajo, etc. Para un paciente dado, la comida más grande del día no es necesariamente la misma comida cada día, es decir, no es a la misma hora del día todos los días. Esta puede variar de un día a otro.

De acuerdo con la presente invención, los niveles de HbA<sub>1c</sub> son un objetivo importante. Hasta ahora, el logro de mejoras en los niveles de HbA<sub>1c</sub> ha demostrado ser difícil en pacientes que padecen de una afección o una enfermedad en un sujeto que lo necesita donde la administración de insulina sería beneficiosa, tal como la diabetes tipo 1, la diabetes tipo 2 así como también para otras formas de estados patológicos que requieren insulina (hiperglucemia de cualquier causa).

Mediante el uso de la combinación de la presente invención es posible lograr mejoras en los niveles de HbA<sub>1c</sub> en pacientes que padecen de diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 así como también para otras formas de estados patológicos que requieren insulina (hiperglucemia de cualquier causa). Este es un hallazgo importante y tiene un valor terapéutico grande en el tratamiento de tales afecciones o enfermedades.

Por lo tanto, la combinación que comprende al menos un primer compuesto de tipo insulina y un segundo compuesto de tipo insulina de acuerdo con la presente invención puede usarse para tratar una afección o una enfermedad en un sujeto que lo necesita donde la administración de insulina sería beneficiosa para dicho sujeto. Por lo tanto, las enfermedades y afecciones que son los objetivos principales para el uso o método de la presente invención son la diabetes mellitus (tipo 1 o 2) u otras afecciones caracterizadas por hiperglucemia, y también son de interés las enfermedades y afecciones metabólicas en general donde los efectos metabólicos de la insulina tienen una relevancia clínica, tales como prediabetes, afectación de la tolerancia a la glucosa, síndrome metabólico, obesidad, caquexia, pérdida/muerte de células beta in vivo, apetito excesivo, e inflamación. Se conoce o se cree que

todos estos tipos de afecciones se benefician de un estado metabólico estable en el sujeto que tiene la enfermedad/afección.

5 En consecuencia, cualquier régimen terapéutico donde se incluya la administración de insulina o de compuestos de insulina puede modificarse mediante la implementación de la presente invención.

10 En un aspecto, el control beneficioso de la glucemia por dicha combinación es superior a cualquier control de la glucemia logrado por una dosis equivalente de IGLar en dicho sujeto como se determina por los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto después de la administración de IGLar a dicho sujeto.

15 El término "dicha combinación es superior a cualquier control de la glucemia logrado por una dosis equivalente de IGLar en dicho sujeto como se determina por los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto después de la administración de IGLar a dicho sujeto" significa que la combinación es superior a una dosis equivalente de IGLar bajo un régimen de administración de acuerdo con la etiqueta de IGLar en el logro de un mejor control de la glucemia como se determina por los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto después de la administración de la combinación o la IGLar.

20 La IGLar (insulina glargina) es una insulina basal comercializada por la compañía Sanofi Aventis bajo el nombre comercial Lantus®. De acuerdo con el folleto en los paquetes de Lantus, IGLar debe proporcionarse una vez al día y a la misma hora cada día.

25 En un aspecto, el control beneficioso de la glucemia por dicha combinación comprende disminuir los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto a 7,0 % o menos después de la administración de dicha combinación en la comida más grande del día. La disminución en los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto a 7,0 % puede lograrse en aproximadamente 26 semanas, o incluso menos.

30 En un aspecto, el control beneficioso de la glucemia por dicha combinación se define como superior a cualquier control de la glucemia logrado por una dosis equivalente de IGLar en dicho sujeto como se determina por los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto después de la administración de IGLar a dicho sujeto y comprende disminuir los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto a 7,0 % o menos después de la administración de dicha combinación en la comida más grande del día.

Además de tener un efecto beneficioso sobre el nivel de HbA<sub>1c</sub>, la combinación de la presente invención también puede tener un efecto beneficioso sobre los niveles de glucosa en sangre.

35 La combinación de la presente invención se administra en la comida más grande del día para dicho sujeto. Esto significa que la combinación de la presente invención se administra con, o alrededor de la misma hora que, la comida más grande del día para dicho sujeto, típicamente desde un poco antes, tal como aproximadamente 30 minutos antes, o hasta un poco después, tal como aproximadamente 30 minutos después.

40 Es ventajoso que la combinación de la presente invención logre el control beneficioso de la glucemia dado que proporciona flexibilidad al sujeto. Un régimen de tratamiento flexible de este tipo genera directamente una serie de ventajas.

45 Por ejemplo, mejora la comodidad de los pacientes por la posibilidad de una administración flexible. Por ejemplo, los pacientes pueden adaptar la administración a su estilo de vida en lugar de depender de la dosificación en puntos de tiempo fijos, lo que puede ser ventajoso en casos de incumplimiento o distracción en los que una dosis se administra antes o después de la hora de inyección prevista; si el paciente está, por ejemplo, de viaje, es un niño o un adolescente, está haciendo deporte o es un trabajador por turnos; o por cualquier otro motivo tiene un estilo de vida irregular o para el cual se producen o no pueden evitarse irregularidades en las rutinas diarias. Otro ejemplo donde la administración flexible es ventajosa es si el paciente vive en un hogar de ancianos o si de otra manera el paciente depende de la administración asistida de los compuestos de insulina. La mayor comodidad mejora potencialmente el cumplimiento del paciente lo que en última instancia mejora el resultado a largo plazo para el paciente.

55 El paciente tiene incluso mayor flexibilidad en comparación con el uso de insulinas basales, como IGLar, que deben inyectarse a la misma hora cada día.

60 Por lo tanto, se ha descubierto sorprendentemente que un control beneficioso de la glucemia (como se define en la presente descripción) puede lograrse mediante la administración de la combinación de la presente invención durante o alrededor de la hora de la comida más grande, típicamente desde un poco antes, tal como aproximadamente 30 minutos antes, o hasta un poco después, tal como aproximadamente 30 minutos después.

65 En los estudios experimentales presentados en la presente descripción, se administró IDegAsp a pacientes con diabetes tipo 2 en la comida más grande del día. Los resultados presentados en la presente descripción provienen de un ensayo Fase 3, controlado y aleatorizado. En la Sección de Ejemplos se proporcionan los datos para la combinación de IDegAsp - una combinación soluble de insulina degludec de acción ultraprolongada (70 %) e insulina aspártica (30 %) - que proporciona cobertura de insulina tanto a la hora de la comida como basal. Este ensayo de

tratamiento hasta un objetivo, abierto, de 26 semanas, investigó la eficacia y la seguridad de IDegAsp en sujetos vírgenes para la insulina con diabetes tipo 2. En estos estudios, los participantes (media: 60,5 años; A1C 8,4 %; FPG 162 mg/dl; BMI 25,1 kg/m<sup>2</sup>; duración de la diabetes 11,7 años) se aleatorizaron a inyecciones una vez al día (OD) de IDegAsp (n=147) o insulina glargina (IGlar; n=149), ambas  $\pm$  hasta 2 OAD (con exclusión de SU, inhibidores de DPP-4 y glinidas). La IDegAsp se proporcionó antes de la comida más grande del día según el criterio de cada participante (y se mantuvo a lo largo del ensayo); IGlar se dosificó como en la etiqueta. Las dosis de ambas insulinas se ajustaron para FPG <90 mg/dl. Después de 26 semanas, la HbA<sub>1c</sub> media fue 7,0 % con IDegAsp y 7,3 % con IGlar. Se demostró la superioridad de IDegAsp sobre IGlar (diferencia entre tratamientos estimada (ETD) IDegAsp-IGlar: -0,28 %-puntos [-0,46; -0,10], p<0,001). La FPG media fue similar para IDegAsp e IGlar (103 vs. 100 mg/dl; ETD IDegAsp-IGlar: 2,7 mg/dl [-5,2; 10,8], p=NS). Se informó hipoglucemia confirmada (PG <56 mg/dl) para 44 % de los sujetos en ambos grupos. Además, IDegAsp se asoció con tasas numéricamente menores de hipoglucemia total confirmada (27 %) y nocturna confirmada (25 %) vs. IGlar (relación de tasas estimadas IDegAsp/IGlar: 0,73 [0,50; 1,08] p=NS y 0,75 [0,34; 1,64], p=NS, respectivamente). Las dosis medias diarias de insulina fueron similares entre los grupos al final del ensayo (IDegAsp: 0,41 U/kg; IGlar: 0,41 U/kg) al igual que los aumentos en el peso corporal respecto al valor inicial (0,7 kg en ambos grupos). Las tasas totales de eventos adversos fueron similares entre los grupos sin patrón o agrupamiento específico del tratamiento. En conclusión, los resultados muestran que la IDegAsp dosificada una vez al día con la comida más grande del día proporcionó un control de la glucemia a largo plazo superior con una FPG similar a IGlar a una tasa numéricamente menor de hipoglucemia total y nocturna. Por lo tanto, en resumen, una administración una vez al día de IDegAsp es superior a IGlar en sujetos con diabetes tipo 2.

Por lo tanto, en los estudios experimentales presentados en la presente descripción, se encontró que la combinación de insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) e IAsp cuando se proporciona con la comida más grande dio como resultado niveles beneficiosos de HbA<sub>1c</sub>, cuyos niveles fueron superiores a los niveles logrados por la administración de IGlar (los datos no se muestran).

Los resultados son sorprendentes cuando se consideran los hallazgos de Strojek y otros (2009) Current Medical Research & Opinion vol 25 páginas 2887 a 2894. Aquí, los autores estudiaron la iniciación una vez al día con insulina bifásica aspártica 30 contra IGlar en pacientes con diabetes tipo 2 controlada de manera inadecuada con fármacos orales. Al final del tratamiento, los autores encontraron que el nivel medio de HbA<sub>1c</sub> fue 7,1 % y 7,3 % para BIAsp 30 e insulina glargina, respectivamente. Los autores encontraron además que el riesgo relativo (RR) de experimentar un episodio hipoglucémico nocturno (00:00-06.00 a.m.) era significativamente mayor con BIAsp 30 que con insulina glargina (1,1 contra 0,5 episodios/año, RR  $\frac{1}{4}$  2,41, IC de 95 % [1,34; 4,34], p  $\frac{1}{4}$  0,003). Los autores informaron además tres episodios de hipoglucemia importantes en cada grupo.

Nuestros hallazgos son sorprendentes dado que, en nuestros estudios previos, encontramos que la combinación de insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) e IAsp cuando se proporcionó con la comida que no era la comida más grande - tal como el desayuno - dio como resultado niveles de HbA<sub>1c</sub> comparables a los niveles logrados por la administración de IGlar (los datos no se muestran).

#### Diabetes

El término "diabetes" o "diabetes mellitus" incluye diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, diabetes gestacional (durante el embarazo) y otros estados que provocan hiperglucemia. El término se usa para un trastorno metabólico en el que el páncreas produce cantidades insuficientes de insulina, o en el que las células del cuerpo no responden adecuadamente a la insulina lo que impide por lo tanto que las células absorban glucosa. Como resultado, la glucosa se acumula en la sangre.

La diabetes tipo 1, también llamada diabetes mellitus insulino dependiente (IDDM) y diabetes juvenil, es provocada por la destrucción de las células B, lo que conduce usualmente a una deficiencia absoluta de insulina.

La diabetes tipo 2, también conocida como diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM) y diabetes del adulto, se asocia con la resistencia predominante a la insulina y por lo tanto con la deficiencia relativa de insulina y/o con un defecto predominantemente en la secreción de insulina con resistencia a la insulina.

#### Otras indicaciones

La combinación de acuerdo con la presente invención puede usarse para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la hiperglucemia que incluye hiperglucemia inducida por estrés, diabetes tipo 2, afectación de la tolerancia a la glucosa, diabetes tipo 1, quemaduras, heridas quirúrgicas, otras enfermedades o lesiones donde se necesita un efecto anabólico en el tratamiento, infarto del miocardio, ictus, enfermedad coronaria, otros trastornos cardiovasculares, tratamiento de pacientes diabéticos y no diabéticos críticos y polineuropatía.

En otra modalidad, la combinación de acuerdo con la presente invención puede usarse como un medicamento para retrasar o impedir la progresión de la enfermedad en la diabetes tipo 2.

En una modalidad de la invención, la combinación de acuerdo con la presente invención puede usarse como un medicamento para el tratamiento o prevención de la hiperglucemia que incluye hiperglucemia inducida por estrés, diabetes tipo 2, afectación de la tolerancia a la glucosa, diabetes tipo 1, y quemaduras, heridas quirúrgicas y otras enfermedades o lesiones donde se necesita un efecto anabólico en el tratamiento, infarto del miocardio, ictus, enfermedad coronaria y otros trastornos cardiovasculares.

En la presente descripción se describe un método para el tratamiento o prevención de la hiperglucemia que incluye hiperglucemia inducida por estrés, diabetes tipo 2, afectación de la tolerancia a la glucosa, diabetes tipo 1, y quemaduras, heridas quirúrgicas y otras enfermedades o lesiones donde se necesita un efecto anabólico en el tratamiento, infarto del miocardio, enfermedad coronaria y otros trastornos cardiovasculares, ictus, el método comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz para tal tratamiento de la combinación de acuerdo con la presente invención.

#### Tratamiento de combinación específico

El tratamiento con la combinación de acuerdo con la presente invención puede combinarse además con una segunda o más sustancias farmacológicamente activas, por ejemplo, seleccionadas de agentes antidiabéticos, agentes antiobesidad, agentes reguladores del apetito, agentes antihipertensivos, agentes para el tratamiento y/o prevención de complicaciones resultantes de o asociadas con la diabetes y agentes para el tratamiento y/o prevención de complicaciones y trastornos resultantes de o asociados con la obesidad.

Los componentes de la combinación de acuerdo con la presente invención pueden administrarse de manera simultánea o secuencial. Los factores pueden suministrarse en forma de dosificación única en donde la forma de dosificación única contiene ambos compuestos, o en forma de un kit de partes que comprende una preparación de la combinación de acuerdo con la presente invención como una primera forma de dosificación unitaria y una preparación de la combinación de acuerdo con la presente invención como una segunda forma de dosificación unitaria. Cuando se menciona una primera o segunda o tercera, etc., dosis unitaria a lo largo de esta descripción esto no indica el orden de administración preferido, sino que se hace simplemente por propósitos prácticos.

Por dosificación "simultánea" de una preparación de la combinación de acuerdo con la presente invención se entiende la administración de los compuestos en forma de dosificación única, o la administración de un primer agente seguido de la administración de un segundo agente con una separación temporal de no más de 15 minutos, preferentemente 10, con mayor preferencia 5, con mayor preferencia 2 minutos. Cualquiera de los factores puede administrarse primero.

Por dosificación "secuencial" se entiende la administración de un primer agente seguido de la administración de un segundo agente con una separación temporal de más de 15 minutos. Cualquiera de las dos formas de dosificación unitaria puede administrarse primero. Preferentemente, ambos productos se inyectan por medio del mismo acceso intravenoso.

Preferentemente la combinación de acuerdo con la presente invención comprende el primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina en la misma formulación - es decir, en la misma composición.

#### Insulina

El término "insulina humana" como se usa en la presente descripción significa la hormona insulina humana cuya estructura y propiedades son bien conocidas. La insulina humana tiene dos cadenas polipeptídicas, denominadas la cadena A y la cadena B. La cadena A es un péptido de 21 aminoácidos y la cadena B es un péptido de 30 aminoácidos, las dos cadenas se conectan mediante puentes disulfuro: un primer puente entre la cisteína en la posición 7 de la cadena A y la cisteína en la posición 7 de la cadena B, y un segundo puente entre la cisteína en la posición 20 de la cadena A y la cisteína en la posición 19 de la cadena B. Un tercer puente está presente entre las cisteínas en la posición 6 y 11 de la cadena A.

En el cuerpo humano, la hormona se sintetiza como una proinsulina precursora de cadena simple (preproinsulina) que consiste en un prepéptido de 24 aminoácidos seguido de la proinsulina que contiene 86 aminoácidos en la configuración: prepéptido-BArg Arg-C-Lys Arg-A, en el que C es un péptido conector de 31 aminoácidos. Arg-Arg y Lys-Arg son sitios de escisión para la escisión del péptido conector de las cadenas A y B.

En la presente descripción una "insulina" de acuerdo con la invención debe entenderse como insulina humana o una insulina de otra especie tal como insulina porcina o bovina.

El término "péptido de insulina" como se usa en la presente descripción significa un péptido que es insulina humana o un análogo o un derivado de esta con actividad insulínica.

El término "insulina parental" como se usa en la presente descripción se refiere a una insulina antes de que se haya aplicado alguna modificación a esta.

## Análogos de insulina

El término "análogo de insulina" como se usa en la presente descripción significa una insulina humana modificada en donde uno o más residuos de aminoácidos de la insulina se han sustituido por otros residuos de aminoácidos y/o en donde uno o más residuos de aminoácidos se han eliminado de la insulina y/o en donde uno o más residuos de aminoácidos se han adicionado y/o insertado a la insulina.

En una modalidad un análogo de insulina comprende menos de 10 modificaciones de aminoácidos (sustituciones, deleciones, adiciones (que incluyen las inserciones) y cualquiera de sus combinaciones) respecto a la insulina humana, alternativamente menos de 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 modificación respecto a la insulina humana.

Las modificaciones en la molécula de insulina se denotan por indicación de la cadena (A o B), la posición, y el código de una o tres letras para el residuo de aminoácido que sustituye al residuo de aminoácido nativo.

Por "desB30" o "B(1-29)" se entiende una cadena B de insulina natural o un análogo de esta que carece del aminoácido B30 y "A(1-21)" significa la cadena A de insulina natural. Por lo tanto, por ejemplo, la insulina humana A21Gly,B28Asp,desB30 es un análogo de insulina humana donde el aminoácido en la posición 21 en la cadena A se sustituye con glicina, el aminoácido en la posición 28 en la cadena B se sustituye con ácido aspártico, y el aminoácido en la posición 30 en la cadena B se elimina.

Los términos en la presente descripción como "A1", "A2" y "A3" etc. indican el aminoácido en la posición 1, 2 y 3 etc., respectivamente, en la cadena A de la insulina (se cuenta a partir del extremo N-terminal). De manera similar, los términos como B1, B2 y B3 etc. indican el aminoácido en la posición 1, 2 y 3 etc., respectivamente, en la cadena B de la insulina (se cuenta a partir del extremo N-terminal). Con el uso de los códigos de una letra para los aminoácidos, los términos como A21A, A21G y A21Q indican que el aminoácido en la posición A21 es A, G y Q, respectivamente. Con el uso de los códigos de tres letras para los aminoácidos, las expresiones correspondientes son A21Ala, A21Gly y A21Gln, respectivamente.

En la presente descripción los términos "A(0)" o "B(0)" indican las posiciones de los aminoácidos N-terminales respecto a A1 o B1, respectivamente. Los términos A(-1) o B(-1) indican las posiciones de los primeros aminoácidos N-terminales respecto a A(0) o B(0), respectivamente. Por lo tanto A(-2) y B(-2) indican las posiciones de los aminoácidos N-terminales respecto a A(-1) y B(-1), respectivamente, A(-3) y B(-3) indican las posiciones de los aminoácidos N-terminales respecto a A(-2) y B(-2), respectivamente, y así sucesivamente. Los términos A22 o B31 indican las posiciones de los aminoácidos C-terminales respecto a A21 o B30, respectivamente. Los términos A23 o B32 indican las posiciones de los primeros aminoácidos C-terminales respecto a A22 o B31, respectivamente. Por lo tanto A24 y B33 indican las posiciones de los aminoácidos C-terminales respecto a A23 y B32, respectivamente, y así sucesivamente.

En la presente descripción, el término "residuo de aminoácido" es un aminoácido del cual, formalmente, un grupo hidroxilo se ha eliminado de un grupo carboxilo y/o del cual, formalmente, un átomo de hidrógeno se ha eliminado de un grupo amino.

Los ejemplos de análogos de insulina son tales en donde la Pro en la posición 28 de la cadena B se sustituye con Asp, Lys, Leu, Val, o Ala y/o Lys en la posición B29 se sustituye con Pro, Glu o Asp. Además, la Asn en la posición B3 puede sustituirse con Thr, Lys, Gin, Glu o Asp. El residuo de aminoácido en la posición A21 puede sustituirse con Gly. Puede añadirse además uno o más aminoácidos al C-terminal de la cadena A y/o la cadena B tales como, por ejemplo, Lys. El aminoácido en la posición B1 puede sustituirse con Glu. El aminoácido en la posición B16 puede sustituirse con Glu o His. Otros ejemplos de análogos de insulina son los análogos de deleción, por ejemplo, análogos donde el aminoácido B30 en la insulina humana se ha eliminado (insulina humana des(B30)), análogos de insulina en donde el aminoácido B1 en la insulina humana se ha eliminado (insulina humana des(B1)), insulina humana des(B28-B30) e insulina humana des(B27). Los análogos de insulina en donde la cadena A y/o la cadena B tienen una extensión N-terminal y los análogos de insulina en donde la cadena A y/o la cadena B tienen una extensión C-terminal tal como con dos residuos de arginina añadidos al C-terminal de la cadena B también son ejemplos de análogos de insulina. Otros ejemplos son los análogos de insulina que comprenden combinaciones de las mutaciones mencionadas. Los análogos de insulina en donde el aminoácido en la posición A14 es Asn, Gin, Glu, Arg, Asp, Gly o His, el aminoácido en la posición B25 es His y que opcionalmente comprende además una o más mutaciones adicionales son otros ejemplos de análogos de insulina. Los análogos de insulina de la insulina humana en donde el residuo de aminoácido en la posición A21 es Gly y en donde el análogo de insulina se extiende adicionalmente en el C-terminal con dos residuos de arginina también son ejemplos de análogos de insulina.

Otros ejemplos de análogos de insulina incluyen:

insulina humana DesB30; insulina humana AspB28; insulina humana AspB28,desB30;

insulina humana LysB3,GluB29; insulina humana LysB28,ProB29;

insulina humana GlyA21,ArgB31,ArgB32; insulina humana GluA14,HisB25;

insulina humana HisA14,HisB25; insulina humana GluA14,HisB25,desB30; insulina humana HisA14,HisB25,desB30;

insulina humana GluA14,HisB25,desB27,desB28,desB29,desB30; insulina humana GluA14,HisB25,GluB27,desB30;  
insulina humana GluA14,HisB16,HisB25,desB30; insulina humana HisA14,HisB16,HisB25,desB30;

5

insulina humana HisA8,GluA14,HisB25,GluB27,desB30;

insulina humana HisA8,GluA14,GluB1,GluB16,HisB25,GluB27,desB30; e

10 insulina humana HisA8,GluA14,GluB16,HisB25,desB30.

Por lo tanto, el análogo de insulina puede incluir un polipéptido que tiene una estructura molecular que puede derivarse formalmente de la estructura de una insulina de origen natural, por ejemplo, la de la insulina humana, mediante la delección y/o el intercambio de al menos un residuo de aminoácido que aparece en la insulina de origen natural y/o la adición de al menos un residuo de aminoácido. Los residuos de aminoácidos adicionados y/o intercambiados pueden ser residuos de aminoácidos codificables u otros residuos de origen natural o residuos de aminoácidos puramente sintéticos

15

Por ejemplo, los análogos de insulina pueden ser tales en donde la posición 28 de la cadena B puede modificarse del residuo de Pro natural a uno de Asp, Lys, o Ile. En otra modalidad la Lys en la posición B29 se modifica a Pro. En una modalidad B30 puede ser Lys y después B29 puede ser cualquier aminoácido codificable excepto Cys, Met, Arg y Lys.

20

Por ejemplo, la Asn en la posición A21 puede modificarse a Ala, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Met, Ser, Thr, Trp, Tyr o Val, en particular a Gly, Ala, Ser, o Thr y preferentemente a Gly.

25

Por ejemplo, la Asn en la posición B3 puede modificarse a Lys o Asp.

Otros ejemplos de análogos de insulina son la insulina humana des(B30); análogos de insulina humana des(B30); análogos de insulina en donde PheB1 se ha eliminado; análogos de insulina en donde la cadena A y/o la cadena B tienen una extensión N-terminal y análogos de insulina en donde la cadena A y/o la cadena B tienen una extensión C-terminal. Por lo tanto puede añadirse una o dos Arg a la posición B1.

30

La expresión "un aminoácido codificable" o "un residuo de aminoácido codificable" se usa para indicar un aminoácido o residuo de aminoácido que puede codificarse mediante un triplete ("codón") de nucleótidos.

35

Otros ejemplos de análogos de insulina incluyen los que tienen un residuo de aminoácido que tiene un grupo de ácido carboxílico en la cadena lateral. La expresión "un residuo de aminoácido que tiene un grupo de ácido carboxílico en la cadena lateral" indica residuos de aminoácidos como Asp, Glu y hGlu. Los aminoácidos pueden estar en la configuración L o D. Si no se especifica nada se entiende que el residuo de aminoácido está en la configuración L.

40

Otros ejemplos de análogos de insulina incluyen los que tienen un residuo de aminoácido que tiene un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral neutra. La expresión "un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral neutra" indica residuos de aminoácidos como Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Pro, Ser, Thr, Cys, Met, Tyr, Asn y Gln.

45

#### Derivados de insulina

El término "derivado de insulina" como se usa en la presente descripción significa una insulina parental modificada químicamente o un análogo de esta, en donde la(s) modificación(ones) es(son) en forma de unión de amidas, carbohidratos, grupos alquilo, grupos acilo, ésteres, PEGilaciones, y similares. Los ejemplos de derivados de insulina humana de acuerdo con la invención son insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30), insulina humana N<sup>ε</sup>B29-ω-carboxi-pentadecanoil-γ-L-glutamilamida desB30, insulina humana N<sup>ε</sup>B29-ω-carboxi-pentadecanoil-γ-amino-butanoil desB30, insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(Nα-(Sar-OC(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>CO)-γ-Glu) desB30, insulina humana NεB29-hexadecandioil-γ-amino-butanoil desB30, insulina N<sup>ε</sup>B29-hexadecandioil-γ-LGlu-amida desB30.

55

Para efectuar la unión covalente de la(s) molécula(s) polimérica(s) al polipéptido, los grupos hidroxilo terminales de la molécula polimérica se proporcionan en forma activada, es decir, con grupos funcionales reactivos. Las moléculas poliméricas activadas adecuadas se encuentran disponibles en el mercado, por ejemplo, de Shearwater Corp., Huntsville, Ala., EE.UU., o de PolyMASC Pharmaceuticals plc, Reino Unido. Alternativamente, las moléculas poliméricas pueden activarse por métodos convencionales conocidos en la técnica, por ejemplo, como se describe en el documento WO 90/13540. Los ejemplos específicos de moléculas poliméricas lineales o ramificadas activadas para el uso en la presente invención se describen en los Catálogos de Shearwater Corp. de 1997 y 2000 (Polímeros biocompatibles funcionalizados para la investigación y productos farmacéuticos, polietilenglicol y derivados, que se incorpora en la presente descripción como referencia). Los ejemplos específicos de polímeros de PEG activados

65



incluyen los PEG lineales siguientes: NHS-PEG (por ejemplo, SPA-PEG, SSPA-PEG, SBA-PEG, SS-PEG, SSA-PEG, SC-PEG, SG-PEG, y SCM-PEG), y NOR-PEG), BTC-PEG, EPOX-PEG, NCO-PEG, NPC-PEG, CDIPEG, ALD-PEG, TRES-PEG, VS-PEG, IODO-PEG, y MAL-PEG, y PEG ramificados tales como PEG2-NHS y los descritos en la patente de EE.UU. núm. 5,932,462 y la patente de EE.UU. núm. 5,643,575.

La conjugación del polipéptido y las moléculas poliméricas activadas se realiza mediante el uso de cualquier método convencional, por ejemplo, como se describe en las siguientes referencias (que describen además los métodos adecuados para la activación de moléculas poliméricas): R. F. Taylor, (1991), "Protein immobilisation. Fundamental and applications", Marcel Dekker, N.Y.; S. S. Wong, (1992), "Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking", CRC Press, Boca Raton; G. T. Hermanson y otros, (1993), "Immobilized Affinity Ligand Techniques", Academic Press, N.Y.). El experto estará al tanto de que el método de activación y/o la química de conjugación para usarse depende del grupo(s) de unión del polipéptido (ejemplos de los cuales se proporcionaron adicionalmente anteriormente), así como también de los grupos funcionales del polímero (por ejemplo, que sean amina, hidroxilo, carboxilo, aldehído, sulfhidrilo, succinimidilo, maleimida, vinilsulfona o haloacetato).

Por lo tanto, el derivado de insulina puede incluir una insulina de origen natural o un análogo de insulina que se ha modificado químicamente, por ejemplo, mediante la introducción de una cadena lateral en una o más posiciones de la cadena principal de insulina o mediante la oxidación o reducción de grupos de los residuos de aminoácidos en la insulina o mediante la conversión de un grupo carboxílico libre a un grupo éster o la acilación de un grupo amino libre o un grupo hidroxilo.

#### Formulaciones farmacéuticas de proteínas

Las composiciones inyectables que contienen la combinación de la presente invención pueden prepararse con el uso de las técnicas convencionales de la industria farmacéutica que implican disolver y mezclar los ingredientes según sea adecuado para proporcionar el producto final deseado. Por lo tanto, de acuerdo con un procedimiento, la combinación de la presente invención se disuelve en una cantidad de agua que es algo menor que el volumen final de la composición a preparar. Se añade un agente isotónico, un conservante y un tampón según se requiera y el valor de pH de la solución se ajusta, si es necesario, con el uso de un ácido, por ejemplo, ácido clorhídrico, o una base, por ejemplo, hidróxido de sodio acuoso, según sea necesario. Por último, el volumen de la solución se ajusta con agua para proporcionar la concentración deseada de los ingredientes.

Más precisamente, una preparación de insulina de esta invención, por ejemplo una solución o suspensión, puede prepararse mediante la disolución de la combinación de la presente invención en un medio acuoso en condiciones ligeramente ácidas, por ejemplo, en una concentración en el intervalo de aproximadamente 240 a aproximadamente 2400 nmol/ml. El medio acuoso se hace isotónico, por ejemplo, con cloruro sódico o glicerol. Además, el medio acuoso puede contener tampones tales como acetato o citrato, conservantes tales como m-cresol o fenol e iones de zinc, por ejemplo, el zinc puede estar presente en una concentración de más de 4 átomos de zinc por 6 moléculas de los derivados de insulina, tal como 4,5 átomos de zinc por 6 moléculas de los derivados de insulina, 5 átomos de zinc por 6 moléculas de los derivados de insulina, 6 átomos de zinc por 6 moléculas de los derivados de insulina o hasta 12 átomos de zinc por 6 moléculas de los derivados de insulina. El valor de pH de la solución se ajusta hacia la neutralidad sin llegar demasiado cerca del punto isoeléctrico del compuesto de esta invención para evitar la precipitación potencial. El valor de pH de la preparación final de insulina depende de qué compuestos de esta invención se usan, la concentración de iones de zinc y la concentración del compuesto de esta invención. La preparación de insulina se esteriliza, por ejemplo, mediante filtración estéril.

#### Primer compuesto de tipo insulina

La combinación de la presente invención comprende un primer compuesto de tipo insulina que es de acción más prolongada que el segundo compuesto de tipo insulina, en donde dicho primer compuesto de tipo insulina es la insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30).

En una modalidad, el primer y/o el segundo compuesto de tipo insulina exhibe en condiciones fisiológicas, al menos en parte, la unión y/o activación (potencia) del receptor de insulina de la insulina de origen natural, preferentemente, al menos 0,01 % de la unión y/o activación (potencia) del receptor de insulina de la insulina de origen natural, por ejemplo, al menos 0,1 %, al menos 1 %, al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 50 %, al menos 65 %, al menos 75 %, al menos 85 %, al menos 95 %, al menos 100 %, al menos 110 %, al menos 120 %, al menos 130 %, al menos 140 % o al menos 150 % de la unión y/o activación (potencia) del receptor de insulina de la insulina de origen natural

La unión al receptor de insulina puede determinarse por cualquier medio adecuado conocido en la técnica. Sin embargo, preferentemente, la unión al receptor de insulina se determina con el uso del método proporcionado en los ejemplos anteriores (ensayo (I) - Unión al receptor de insulina).

La activación del receptor de insulina (potencia) puede determinarse por cualquier medio adecuado conocido en la técnica. Sin embargo, preferentemente, la unión al receptor de insulina se determina con el uso del método proporcionado en los ejemplos anteriores (ensayo (II) -Potencia).

5 En una modalidad, el primer y/o el segundo compuesto de insulina tiene una semivida de al menos 18 horas, tal como al menos 24 horas, en donde la semivida puede determinarse como se describe en el Ejemplo Clínico 1 en la presente descripción. En una modalidad el primer y/o el segundo compuesto de insulina tiene una semivida de al menos 12 horas, tal como al menos 12 horas y menos de 24 horas, donde la semivida puede determinarse como se describe en el Ejemplo Clínico 1 en la presente descripción.

10 En una modalidad, el término "insulina de acción prolongada" significa que el compuesto de tipo insulina tiene una acción insulínica o un perfil de acción prolongado (por ejemplo, mantiene los niveles de azúcar en sangre en un nivel equilibrado y estable) durante hasta 24 horas.

15 En una modalidad, una insulina de larga duración exhibe una semivida de al menos 10 horas en condiciones fisiológicas cuando se inyecta por vía subcutánea, por ejemplo, al menos 12,5 horas, al menos 15 horas, al menos 17,5 horas, al menos 20 horas, al menos 22,5 horas, al menos 25 horas, al menos 27,5 horas, al menos 30 horas, al menos 32,5, al menos 35 horas, al menos 37,5 horas o al menos 40 horas. Preferentemente, una insulina de larga duración exhibe además una semivida menor que o igual a 24 h en condiciones fisiológicas cuando se inyecta por vía subcutánea, por ejemplo, menor que o igual a 22 h, menor que o igual a 20 h, menor que o igual a 18 h, menor que o igual a 16 h o menor que o igual a 14 h.

25 La semivida de la insulina puede determinarse por cualquier medio adecuado conocido en la técnica (por ejemplo, ver G Novo SC, Harris S, Woo V, Davies M, 2013, 'Insulin degludec: overview of a novel ultra-acting basal insulin' Diabetes Obes Metab., 15(4):301-9; y/o Heise T, Nosek L, Böttcher SG, Hastrup H, Haahr H, 2012, 'Ultra-long-acting insulin degludec has a flat and stable glucose-lowering effect in type 2 diabetes' Diabetes Obes Metab., 14(10):944-50, cuyas descripciones se incorporan en la presente descripción como referencia). La semivida de la insulina puede determinarse además como se describe en el Ejemplo Clínico 1 en la presente descripción. Preferentemente, la semivida de la insulina se determina con el uso del método proporcionado en el Ensayo (III) en la presente descripción.

30 Con respecto a esto, para algunas modalidades el primer compuesto de tipo insulina es una insulina de acción ultraprolongada.

35 En una modalidad, el término "insulina de acción ultraprolongada" significa que el compuesto de tipo insulina tiene una acción insulínica o un perfil de acción prolongado (por ejemplo, mantiene los niveles de azúcar en sangre en un nivel equilibrado y estable) durante más de 24 horas.

40 En una modalidad, una insulina de duración ultraprolongada exhibe una semivida de más de 18 h en condiciones fisiológicas cuando se inyecta por vía subcutánea, por ejemplo, mayor que 20 h, mayor que 22 h o mayor que 24 h. En una modalidad "perfil de acción prolongado" se define como un tiempo promedio hasta la pérdida del control de la glucosa de al menos 20 horas, en donde el tiempo promedio hasta la pérdida del control de la glucosa puede determinarse como se describe en el Ejemplo Clínico 1 en la presente descripción.

45 En una modalidad el compuesto de tipo insulina usado en la presente invención tiene 1) un perfil de acción y/o semivida suficientemente prolongados en la mayoría de los sujetos y opcionalmente 2) una forma relativamente plana y estable del perfil de actividad para no provocar un aumento indebido en la acción insulínica cuando se usa con un intervalo de dosificación corto. Una indicación de la duración de la acción en el uso clínico puede obtenerse en condiciones experimentales tales como mediante el uso del procedimiento de pinza de glucosa euglucémica (L. Heinemann y J. H. Anderson-Jr. Measurement of insulin absorption and insulin action. Diabetes Technol Ther 6 (5):698-718, 2004), que se usa en el Ejemplo Clínico 1. Una indicación del carácter plano del perfil de actividad en el uso clínico puede obtenerse en condiciones experimentales como se describe en el Ejemplo Clínico 1 o el Ejemplo Clínico 2. Una indicación de la estabilidad del perfil de actividad en el uso clínico puede obtenerse en condiciones experimentales como se describe en el Ejemplo Clínico 1 o el Ejemplo Clínico 2.

55 En una modalidad, el primer compuesto de tipo insulina no tiene un perfil de actividad con pico relativamente alto. Este pico se define como el valor máximo en una curva cuando la infusión de glucosa se representa gráficamente contra el tiempo desde la administración del fármaco. Una indicación del pico del perfil de actividad en el uso clínico puede obtenerse en condiciones experimentales como se describe en el Ejemplo Clínico 1 o el Ejemplo Clínico 2.

60 Preferentemente, la primera y/o la segunda insulina de tipo insulina inducen en un sujeto una desviación máxima de la concentración media de insulina (AUCF %) en un periodo de 24 horas de  $\leq \pm 18$ , por ejemplo,  $\leq \pm 17$ ,  $\leq \pm 16$ ,  $\leq \pm 15$ ,  $\leq \pm 14$ ,  $\leq \pm 13$ ,  $\leq \pm 12$ ,  $\leq \pm 11$ ,  $\leq \pm 10$ ,  $\leq \pm 9$ ,  $\leq \pm 8$ ,  $\leq \pm 7$ ,  $\leq \pm 6$ ,  $\leq \pm 5$ ,  $\leq \pm 4$ ,  $\leq \pm 3$ ,  $\leq \pm 2$ ,  $\leq \pm 1$ ,  $\leq \pm 0,5$ ,  $\leq \pm 0,1$ .

65 La desviación máxima de la concentración media de insulina (AUCF %) puede determinarse por cualquier medio adecuado conocido en la técnica (ver, por ejemplo, Heise y otros, Póster EASD 2011).

- 5 En una modalidad, la primera y/o la segunda insulina de tipo insulina proporciona preferentemente un efecto de reducción de la glucosa estable y uniformemente distribuido en el intervalo de dosificación. Por ejemplo, la tasa de infusión de glucosa (GIR) en un intervalo de dosificación de 24 horas ( $\tau$ ) cuantificada mediante el cálculo de la relación de AUC para las subáreas bajo los perfiles de GIR para los cuatro intervalos de medición de 6 horas (proporción de AUC de GIR:  $AUC_{GIR,0-6h,SS}/AUC_{GIR,T,SS}$ ;  $AUC_{GIR,6-12h,SS}/AUC_{GIR,T,SS}$ ;  $AUC_{GIR,12-18h,SS}/AUC_{GIR,T,SS}$ ;  $AUC_{GIR,18-24h,SS}/AUC_{GIR,T,SS}$ ) debería ser cercana a la distribución 25:25:25:25 % (preferentemente 6 8 %, por ejemplo, 6 4 %, 6 3 %, 6 2 %, 6 1 %, 6 0,5 % o 6 0,1 %).
- 10 Además, la fluctuación en GIR en un intervalo de dosificación es preferentemente tan pequeña como sea posible. La fluctuación en GIR puede evaluarse por  $AUC_{FGIR,T}$ : que estima cuánto se desvía el perfil de GIR de un individuo de su GIR media en 24 h). Preferentemente,  $AUC_{FGIR,T}$  es  $\leq 58$  (por ejemplo,  $\leq 57$ ,  $\leq 56$ ,  $\leq 55$ ,  $\leq 54$ ,  $\leq 53$ ,  $\leq 52$ ,  $\leq 51$  o  $\leq 50$ ). La fluctuación en GIR ( $AUC_{FGIR,T}$ ) puede evaluarse por cualquier método adecuado conocido en la técnica. Sin embargo, en una modalidad, GIR ( $AUC_{FGIR,T}$ ) se evalúa de acuerdo con el método descrito en Heise y otros, 2012, Diabetes, Obesity and Metabolism, 14(9):859-64.
- 15 En otro grupo de análogos de insulina parental, el residuo de aminoácido en la posición B30 se ha eliminado. Un ejemplo específico de este grupo de análogos de insulina parental es la insulina humana des(B30).
- 20 En otro grupo de análogos de insulina parental, el residuo de aminoácido en la posición B28 es Asp. Un ejemplo específico de este grupo de análogos de insulina parental es la insulina humana Asp<sup>B28</sup> (o indicada de otra manera como AspB28).
- 25 En otro grupo de análogos de insulina parental, el residuo de aminoácido en la posición B28 es Lys y el residuo de aminoácido en la posición B29 es Pro. Un ejemplo específico de este grupo de análogos de insulina parental es la insulina humana Lys<sup>B28</sup>Pro<sup>B29</sup>.
- 30 En otro grupo de análogos de insulina parental el residuo de aminoácido en la posición B30 es Lys y el residuo de aminoácido en la posición B29 es cualquier aminoácido codificable excepto Cys, Met, Arg y Lys. Un ejemplo es un análogo de insulina donde el residuo de aminoácido en la posición B29 es Thr y el residuo de aminoácido en la posición B30 es Lys. Un ejemplo específico de este grupo de análogos de insulina parental es la insulina humana Thr<sup>B29</sup>Lys<sup>B30</sup>.
- 35 En otro grupo de análogos de insulina parental, el residuo de aminoácido en la posición B3 es Lys y el residuo de aminoácido en la posición B29 es Glu. Un ejemplo específico de este grupo de análogos de insulina parental es la insulina humana Lys<sup>B3</sup>Glu<sup>B29</sup>.
- 40 En una modalidad la insulina parental se selecciona del grupo que consiste en insulina humana; insulina humana des(B1); insulina humana des(B30); insulina humana GlyA21; insulina humana GlyA21 des(B30); insulina humana AspB28; insulina porcina; insulina humana LysB28ProB29; insulina humana GlyA21ArgB31ArgB32; e insulina humana LysB3GluB29.
- 45 Los detalles relativos a la preparación, formulación, farmacología y otras características de relevancia para la insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) se exponen en el documento WO 2005/012347.
- 50 La combinación de la presente invención puede comprender además uno o más primeros compuestos de tipo insulina adicionales.
- 55 El uno o más primeros compuestos de tipo insulina adicionales pueden ser cualquiera de uno o más de los primeros compuestos de tipo insulina presentados anteriormente.
- Segundo compuesto de tipo insulina
- La combinación de la presente invención comprende un segundo compuesto de tipo insulina que es de acción más rápida que el segundo compuesto de tipo insulina.
- 60 El segundo compuesto de tipo insulina es una insulina de acción rápida.
- El término "insulina de acción rápida" significa que el compuesto de tipo insulina tiene una acción insulínica que tiene efecto en un período de tiempo muy corto - es decir, la aparición de la acción está dentro de los 30 minutos y el efecto máximo está dentro de 1-3 horas.
- 65 En la combinación de la invención, la insulina de acción rápida es la IAsp. La IAsp es una insulina humana en la que el aminoácido de origen natural en la posición B28 se reemplaza con Asp (insulina humana Asp<sup>B28</sup>). La IAsp se vende bajo el nombre comercial de NovoRapid® (Novo Nordisk A/S).
- Otros análogos de insulina de acción rápida se describen en el documento WO2007/074133.

La combinación de la presente invención puede comprender además uno o más segundos compuestos de tipo insulina adicionales.

5 El uno o más primeros compuestos de tipo insulina adicionales pueden ser cualquiera de uno o más de los segundos compuestos de tipo insulina presentados anteriormente.

En una modalidad preferida, la insulina de acción rápida adicional se selecciona del grupo que consiste en insulina humana Lys<sup>B28</sup>Pro<sup>B29</sup> e insulina humana Lys<sup>B3</sup>Glu<sup>B29</sup>.

10 Hidrofobicidad

Para algunas modalidades, el primer compuesto de tipo insulina tiene una hidrofobicidad general que es esencialmente similar a la de la insulina humana.

15 Para algunas modalidades, el primer compuesto de tipo insulina tiene un índice hidrófobo,  $k'_{rel}$ , que está en el intervalo de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 10, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5; de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5; o de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2.

20 Solubilidad

Para algunas modalidades, el primer compuesto de tipo insulina es soluble a valores de pH fisiológicos.

Para algunas modalidades, el segundo compuesto de tipo insulina es soluble a valores de pH fisiológicos.

25 Cuando se indica que un compuesto de tipo insulina de acuerdo con la invención es "soluble a valores de pH fisiológicos" significa que el derivado de insulina puede usarse para preparar composiciones inyectables de insulina que se disuelven completamente a valores de pH fisiológicos. Tal solubilidad favorable puede deberse a las propiedades inherentes del compuesto de tipo insulina solo o ser un resultado de una interacción favorable entre el derivado de insulina y uno o más ingredientes contenidos en el vehículo.

30 Por lo tanto, en una modalidad, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un primer compuesto de tipo insulina que es soluble a valores de pH fisiológicos y/o un segundo compuesto de tipo insulina que es soluble a valores de pH fisiológicos.

35 Por lo tanto, en una modalidad, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un primer compuesto de tipo insulina que es soluble a valores de pH fisiológicos y un segundo compuesto de tipo insulina que es soluble a valores de pH fisiológicos.

40 En otra modalidad, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un primer compuesto de tipo insulina que es soluble a valores de pH en el intervalo de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,5 y/o un segundo compuesto de tipo insulina que es soluble a valores de pH en el intervalo de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 8,5.

45 Algunas modalidades preferidas

Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención se usa junto con otro de uno o más agentes farmacéuticamente activos.

50 Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención se usa junto con uno o más fármacos antidiabéticos, tales como uno o más fármacos antidiabéticos administrados por vía oral.

Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención se usa para tratar a un sujeto que tiene al menos 20 años.

55 Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención se usa para tratar a un sujeto cuyo índice de masa corporal es no mayor que 35 kg/m<sup>2</sup>.

Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención se usa para tratar a un sujeto cuyo índice de masa corporal es aproximadamente 25 kg/m<sup>2</sup>.

60 Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención se usa para tratar a un sujeto cuyo nivel de HbA<sub>1c</sub> inicial antes del tratamiento es mayor que 7 %, tal como aproximadamente 8 % o 9 %.

65 Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención se usa para tratar a un sujeto que ha padecido una duración de la diabetes durante al menos 1 año, tal como al menos 5 años, tal como al menos 10 años.

- Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención es capaz de lograr un nivel de HbA<sub>1c</sub> inicial para el sujeto de no más de 7 % después de 26 semanas de tratamiento.
- 5 Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención es capaz de lograr que un incremento de PG (glucosa plasmática) se reduzca más que con el uso de una dosificación equivalente de IGLar.
- Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención es capaz de lograr que un incremento de PG (glucosa plasmática) se reduzca más de aproximadamente 50 %.
- 10 Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención es capaz de lograr una cobertura basal de acción prolongada con cobertura prandial adicional de una comida al día.
- Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención es capaz de lograr un control superior de las desviaciones de la glucosa postprandial en comparación con una dosis equivalente de IGLar sin comprometer el control de FPF (glucosa plasmática en ayunas).
- 15 Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención es capaz de lograr una mejora en el control de la glucemia y reducir el incremento de la glucosa plasmática prandial en la cena.
- 20 Para algunas modalidades de la presente invención, la combinación de la presente invención es superior a IGLar a una dosis equivalente en el logro de una mayor proporción de sujetos hasta un objetivo de HbA<sub>1c</sub> < 7 % sin hipoglucemia confirmada.
- 25 Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina se suministran juntos.
- Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina se suministran juntos en la misma formulación.
- 30 Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y/o el segundo compuesto de tipo insulina se suministran por inyección.
- Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina se suministran por inyección.
- 35 Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina se suministran juntos por inyección.
- 40 Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina se suministran juntos por inyección y en la misma formulación.
- 45 Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y/o el segundo compuesto de tipo insulina se suministran por inyección mediante el uso de dispositivos tipo lapicera de insulina.
- 50 Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina se suministran por inyección mediante el uso de dispositivos tipo lapicera de insulina.
- 55 Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina se suministran juntos por inyección mediante el uso de dispositivos tipo lapicera de insulina.
- 60 Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y/o el segundo compuesto de tipo insulina se suministran por inyección mediante el uso de FlexPen® o Flex-Touch®.
- 65 Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina se suministran por inyección mediante el uso de FlexPen® o FlexTouch®.

Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina se suministran juntos por inyección mediante el uso de FlexPen® o FlexTouch®.

- 5 Para algunas modalidades de la presente invención, con la combinación de la presente invención, el primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina se suministran juntos por inyección y en la misma formulación mediante el uso de un FlexPen® o un FlexTouch®.

FlexPen® y/o FlexTouch® son marcas comerciales de Novo Nordisk A/S.

- 10 El derivado de insulina descrito en el documento WO2005/012347 puede formularse con análogos de insulina de acción rápida como se describe en el documento WO2007/074133.

- 15 El primer compuesto de tipo insulina es la insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N<sup>α</sup>-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO)-γ-L-Glu) des(B30) y el segundo compuesto de tipo insulina es la insulina humana AspB28, junto con portadores y aditivos farmacéuticamente aceptables.

- 20 En algunos casos en la presente descripción, la insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N<sup>α</sup>-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO)-γ-L-Glu) des(B30) se denomina Degludec, insulina degludec, IDeg o insulina humana LysB29(N<sup>ε</sup>-hexadecandioil-γ-L-Glu) des(B30).

- 25 En algunos casos en la presente descripción, la insulina humana AspB28 se denomina IDegAsp o DegludecPlus.

Otras combinaciones

- 25 En una modalidad, la combinación de la presente invención se usa por sí sola en el tratamiento del paciente.

En una modalidad, la combinación de la presente invención se usa junto con una o más de otras combinaciones de acuerdo con la presente invención, o sus componentes.

- 30 En una modalidad, la combinación de la presente invención se usa junto con uno o más de otros agentes farmacéuticamente activos.

En una modalidad, la combinación de la presente invención se usa junto con uno o más fármacos antidiabéticos.

- 35 En una modalidad, la combinación de la presente invención se usa junto con uno o más fármacos antidiabéticos administrados por vía oral.

- 40 En una modalidad, la combinación de la presente invención se usa junto con uno o más fármacos antidiabéticos, tales como uno o más de sulfonilurea, biguanida, inhibidor de alfa-glucosidasa, tiazolidinediona, inhibidor de DPP4, glinida, metformina y un agonista de GLP-1.

Formulaciones

- 45 El primer compuesto de tipo insulina de acuerdo con la presente invención y el segundo compuesto de tipo insulina de acuerdo con la presente invención pueden mezclarse si es necesario en una relación de aproximadamente 90/10 %; aproximadamente 85/15 %, aproximadamente 80/20 %, aproximadamente 70/30 %, aproximadamente 60/40 %, aproximadamente 50/50 %, aproximadamente 40/60 %, aproximadamente 30/60 % o aproximadamente 10/90 %.

- 50 En otra modalidad, el primer compuesto de tipo insulina de acuerdo con la presente invención y el segundo compuesto de tipo insulina de acuerdo con la presente invención pueden mezclarse si es necesario en una relación de 40 % o más del primero a 60 % o menos del segundo compuesto de tipo insulina, de más de 50 % o más del primero a menos de 50 % del segundo compuesto de tipo insulina, o de aproximadamente el 70 % o más del primero a aproximadamente 30 % o menos del segundo compuesto de tipo insulina,

- 55 En otra modalidad, la invención se refiere a una composición farmacéutica que es una solución que contiene de aproximadamente 120 nmol/ml a aproximadamente 2400 nmol/ml, de aproximadamente 400 nmol/ml a aproximadamente 2400 nmol/ml, de aproximadamente 400 nmol/ml a aproximadamente 1200 nmol/ml, de aproximadamente 600 nmol/ml a aproximadamente 2400 nmol/ml, o de aproximadamente 600 nmol/ml a aproximadamente 1200 nmol/ml de un primer compuesto de tipo insulina de la presente invención y/o un segundo compuesto de tipo insulina.

- 60 En la combinación de la presente invención, cada uno de los compuestos de tipo insulina puede estar en una cantidad de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 U/Kg, típicamente de aproximadamente 0,03 a aproximadamente 3 U/Kg.

- 65 En una modalidad de la presente invención la concentración de la composición farmacéutica es 100 U/ml.

En una modalidad de la presente invención la concentración de la composición farmacéutica es 200 U/ml.

En una modalidad la insulina de origen natural, el análogo de insulina o el derivado se formula junto con un portador y/o vehículo y/o diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

5 En la presente descripción una composición farmacéutica que contiene una insulina de origen natural, un análogo de insulina, o un derivado de una insulina de origen natural o de un análogo de insulina se denomina "una composición de insulina". Para hacer uso de la presente invención una composición de insulina puede administrarse por vía parenteral a los pacientes que necesitan dicho tratamiento. La administración parenteral puede realizarse por inyección, tal como inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa, por medio de una jeringa, opcionalmente una jeringa tipo lapicera. En una modalidad la administración es por inyección s.c. En una modalidad la administración es por inyección i.m. En una modalidad la administración es por inyección i.v. Alternativamente, la administración parenteral puede realizarse por medio de una bomba de infusión. Otras opciones son administrar la composición de insulina por vía nasal o pulmonar, preferentemente en composiciones, polvos o líquidos, diseñadas específicamente para el propósito.

20 Las composiciones inyectables de insulina pueden prepararse con el uso de las técnicas convencionales de la industria farmacéutica que implican disolver y mezclar los ingredientes según sea adecuado para proporcionar el producto final deseado. Por lo tanto, de acuerdo con un procedimiento, una insulina natural, un análogo o un derivado se disuelve en una cantidad de agua que es algo menor que el volumen final de la composición a preparar. Se añade un agente isotónico, un conservante y un tampón según se requiera y el valor de pH de la solución se ajusta - si es necesario - con el uso de un ácido, por ejemplo, ácido clorhídrico, o una base, por ejemplo, hidróxido de sodio acuoso según sea necesario. Por último, el volumen de la solución se ajusta con agua para proporcionar la concentración deseada de los ingredientes.

25 El tampón se selecciona típicamente del grupo que consiste en acetato de sodio, carbonato de sodio, citrato, glicilglicina, histidina, glicina, lisina, arginina, dihidrógeno fosfato de sodio, hidrógeno fosfato de disodio, fosfato de sodio y tris(hidroximetil)-aminometano, bicina, tricina, ácido málico, succinato, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido aspártico o sus mezclas. Cada uno de estos tampones específicos constituye una alternativa útil en las modalidades de la invención.

35 En una modalidad adicional de la invención la formulación comprende además un conservante farmacéuticamente aceptable que puede seleccionarse del grupo que consiste en fenol, o-cresol, m-cresol, p-cresol, p-hidroxibenzoato de metilo, p-hidroxibenzoato de propilo, 2-fenoxietanol, p-hidroxibenzoato de butilo, 2-feniletanol, alcohol bencílico, clorobutanol, y tiomersal, bronopol, ácido benzoico, imidaurea, clorohexidina, deshidroacetato de sodio, clorocresol, p-hidroxibenzoato de etilo, cloruro de bencetonio, clorfenesina (3p-clorfenoxipropano-1,2-diol) o sus mezclas. En una modalidad adicional de la invención, el conservante está presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 20 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención, el conservante está presente en una concentración de 0,1 mg/ml a 5 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención, el conservante está presente en una concentración de 5 mg/ml a 10 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención, el conservante está presente en una concentración de 10 mg/ml a 20 mg/ml. Cada uno de estos conservantes específicos constituye una modalidad alternativa de la invención. El uso de un conservante en composiciones farmacéuticas es bien conocido por los expertos. Por conveniencia se hace referencia a Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19na edición, 1995.

45 En una modalidad adicional de la invención la formulación comprende además un agente isotónico que puede seleccionarse del grupo que consiste en una sal (por ejemplo, cloruro sódico), un azúcar o azúcar alcohólico, un aminoácido (por ejemplo, L-glicina, L-histidina, arginina, lisina, isoleucina, ácido aspártico, triptófano, treonina), un alditol (por ejemplo, glicerol (glicerina), 1,2-propanodiol (propilenglicol), 1,3-propanodiol, 1,3-butanodiol) polietilenglicol (por ejemplo, PEG400), o sus mezclas. Puede usarse cualquier azúcar tal como mono-, di-, o polisacáridos, o glucanos solubles en agua, que incluyen, por ejemplo, fructosa, glucosa, manosa, sorbosa, xilosa, maltosa, lactosa, sacarosa, trehalosa, dextrano, pululano, dextrina, ciclodextrina, almidón soluble, hidroxietil almidón y carboximetilcelulosa de Na. En una modalidad el aditivo de azúcar es sacarosa. El azúcar alcohólico se define como un hidrocarburo C4-C8 que tiene al menos un grupo -OH e incluye, por ejemplo, manitol, sorbitol, inositol, galactitol, dulcitol, xilitol y arabitól. En una modalidad, el aditivo de azúcar alcohólico es manitol. Los azúcares o azúcares alcohólicos mencionados anteriormente pueden usarse individualmente o en combinación. No hay un límite fijo para la cantidad usada, siempre que el azúcar o el azúcar alcohólico sean solubles en la preparación líquida y no afecten negativamente los efectos estabilizantes logrados con el uso de los métodos de la invención. En una modalidad, la concentración del azúcar o el azúcar alcohólico está entre aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 150 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el agente isotónico está presente en una concentración de 1 mg/ml a 50 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el agente isotónico está presente en una concentración de 1 mg/ml a 7 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el agente isotónico está presente en una concentración de 8 mg/ml a 24 mg/ml. En una modalidad adicional de la invención el agente isotónico está presente en una concentración de 25 mg/ml a 50 mg/ml. Cada uno de estos agentes isotónicos específicos constituye una modalidad alternativa de la invención. El uso de un agente isotónico en composiciones farmacéuticas es bien conocido por los expertos.

Por conveniencia se hace referencia a Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19na edición, 1995.

Los agentes isotónicos típicos son cloruro sódico, manitol, dimetil sulfona y glicerol y los conservantes típicos son fenol, m-cresol, p-hidroxibenzoato de metilo y alcohol bencílico.

Los ejemplos de tampones adecuados son acetato de sodio, glicilglicina, HEPES (ácido 4-(2-hidroxiethyl)-1-piperazinetanosulfónico), TRIS (2-amino-2-hidroxiethyl-1,3-propandiol), y fosfato de sodio.

Una composición para la administración nasal puede prepararse, por ejemplo, como se describe en la patente europea núm. 272097 (concedida a Novo Nordisk A/S).

Las composiciones que contienen insulina pueden usarse en el tratamiento de estados que son sensibles a la insulina. Por lo tanto, pueden usarse en el tratamiento de la diabetes tipo 1, la diabetes tipo 2 y la hiperglucemia, por ejemplo, como se observa en ocasiones en personas gravemente lesionadas y personas que se han sometido a cirugía mayor. El nivel de dosis óptimo para cualquier paciente dependerá de una variedad de factores que incluyen la eficacia de la insulina, el análogo o el derivado específico empleado, la edad, el peso corporal, la actividad física, y la dieta del paciente, de una posible combinación con otros fármacos, y de la severidad del estado a tratar. Se recomienda que los expertos en la técnica determinen el régimen de dosificación para cada paciente individual de manera similar a la de las composiciones de insulina conocidas, teniendo en cuenta sin embargo las presentes enseñanzas relacionadas con los intervalos de dosificación.

Cuando sea oportuno, las composiciones de insulina pueden usarse en combinación con otros tipos de insulina, por ejemplo, análogos de insulina con una aparición de la acción más rápida. Los ejemplos de tales análogos de insulina se describen, por ejemplo, en las solicitudes de patente europea que tienen los núms. de publicación EP 214826 (Novo Nordisk A/S), EP 375437 (Novo Nordisk A/S) y EP 383472 (Eli Lilly & Co.).

Uso como medicamento

La presente invención se usa en el tratamiento de la diabetes tipo 1 o 2. En una modalidad la diabetes mellitus es la diabetes tipo 2, que fracasa con el tratamiento antidiabético oral.

En una modalidad la invención se refiere a instrucciones para el uso que comprenden una descripción de un método como se define en la presente descripción.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra un gráfico.

La Figura 2 muestra un gráfico.

Modalidades de la invención

La invención se resumirá adicionalmente en los párrafos a continuación:

1. Una combinación que comprende al menos un primer compuesto de tipo insulina y un segundo compuesto de tipo insulina para tratar la diabetes tipo 1 o tipo 2 en un sujeto que lo necesita donde la administración de insulina sería beneficiosa para dicho sujeto; en donde dicho primer compuesto de tipo insulina es la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) y dicho segundo compuesto de tipo insulina es la insulina humana AspB28; en donde dicha combinación se administra una vez al día en una cantidad para lograr un control beneficioso de la glucemia en dicho sujeto como se determina por los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto después de la administración de dicha combinación en la comida más grande del día para dicho sujeto; en donde dicho control beneficioso de la glucemia por dicha combinación comprende disminuir los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto a 7,0 % o menos después de la administración de dicha combinación en la comida más grande del día.

2a. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con el párrafo anterior en donde dicho paciente determina cuál es la comida más grande del día.

2b. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde la comida más grande del día para dicho paciente no es necesariamente la cena.

2c. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde en la comida más grande comprende o consiste en durante dicha comida así como también hasta aproximadamente 30 minutos antes de la primera ingesta de alimento y hasta aproximadamente 30 minutos después de la última ingesta de alimento de dicha comida.



3. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con el párrafo 1 en donde dicha combinación logra el control de la glucemia a largo plazo en dicho sujeto.
- 5 4. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde la combinación es capaz de provocar que el sujeto tenga menos hipoglucemia nocturna en comparación con una dosis equivalente de IGLar.
- 10 5. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde la combinación es capaz de provocar que el sujeto tenga menos hipoglucemia total en comparación con una dosis equivalente de IGLar.
6. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho sujeto padece de diabetes tipo II.
- 15 7. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho primer compuesto de tipo insulina está presente en dicha combinación en una cantidad mayor que el segundo compuesto de tipo insulina.
- 20 8. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho primer compuesto de tipo insulina está presente en dicha combinación en una cantidad molar de más de aproximadamente 55 %, o más de aproximadamente 60 %, o más de aproximadamente 65 %, o más de aproximadamente 70 %, o más de aproximadamente 75 % o más de aproximadamente 80 % en base a la cantidad molar del segundo compuesto de tipo insulina en dicha combinación.
- 25 9. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho primer compuesto de tipo insulina está presente en dicha combinación en una cantidad molar de aproximadamente 70 % o más, en base a la cantidad molar del segundo compuesto de tipo insulina en dicha combinación.
- 30 10. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho primer compuesto de tipo insulina está presente en dicha combinación en una cantidad molar de aproximadamente 70 %, en base a la cantidad molar del segundo compuesto de tipo insulina en dicha combinación.
- 35 11. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho primer compuesto de tipo insulina está presente en dicha combinación en una cantidad molar de aproximadamente 85 %, en base a la cantidad molar del segundo compuesto de tipo insulina en dicha combinación.
- 40 12. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho segundo compuesto de tipo insulina está presente en dicha combinación en una cantidad molar de menos de aproximadamente 55 %, o menos de aproximadamente 40 %, o menos de aproximadamente 35 %, o menos de aproximadamente 30 %, o menos de aproximadamente 25 %, o menos de aproximadamente 20 % en base a la cantidad molar del primer compuesto de tipo insulina en dicha combinación.
- 45 13. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho segundo compuesto de tipo insulina está presente en la combinación en una cantidad molar de aproximadamente 30 % o menos, en base a la cantidad molar del primer compuesto de tipo insulina en dicha combinación.
- 50 14. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho segundo compuesto de tipo insulina está presente en la combinación en una cantidad molar de aproximadamente 15 %, en base a la cantidad molar del primer compuesto de tipo insulina en dicha combinación.
- 55 15. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho segundo compuesto de tipo insulina está presente en la combinación en una cantidad molar de aproximadamente 30 %, en base a la cantidad molar del primer compuesto de tipo insulina en dicha combinación.
- 60 16. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicha combinación comprende un portador y/o vehículo y/o un diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 65 17. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho primer compuesto de tipo insulina y el segundo compuesto de tipo insulina están en la misma formulación.
18. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho control beneficioso de la glucemia por dicha combinación comprende disminuir los niveles de HbA<sub>1c</sub> en

dicho sujeto a aproximadamente 7 % o menos después de la administración de dicha combinación en la comida más grande del día en un período de aproximadamente 26 semanas.

5 19. Una combinación para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicho control beneficioso de la glucemia por dicha combinación comprende disminuir los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto a aproximadamente 7 % o menos después de la administración de dicha combinación en la comida más grande del día en un período de menos de aproximadamente 26 semanas.

10 20. El uso de una combinación como se define en cualquiera de los párrafos anteriores en la preparación de un medicamento para lograr un control beneficioso de la glucemia en un sujeto.

21. Un uso de acuerdo con el párrafo 20 en donde dicho sujeto padece de diabetes tipo II.

15 22. Una combinación o un método o uso para lograr el control de la glucemia de acuerdo con cualquiera de los párrafos anteriores en donde dicha combinación se administra en una cantidad de aproximadamente 0,4 U/kg.

#### Abreviaturas

Las siguientes abreviaturas se han usado en la descripción y los ejemplos:

20

Aad: Ácido alfa-aminoadípico (ácido homoglutámico)

Bzl: Bn: bencilo

25

DIEA: N,N-diisopropiletilamina

DMF: N,N-dimetilformamida

30

IDA: Ácido iminodiacético

Sar: Sarcosina (N-metilglicina)

tBu:terc-butilo

35

TSTU: Tetrafluoroborato de O-(N-succinimidil)-1,1,3,3-tetrametiluronio

THF: Tetrahidrofurano

EtOAc: Acetato de etilo

40

DIPEA: Diisopropiletilamina

HOAt: 1-Hidroxi-7-azabenzotriazol

45

TEA: trietilamina

Su: succinimidil= 2,5-dioxo-pirrolidin-1-ilo

50

TFA: ácido trifluoroacético

DCM: diclorometano

DMSO: dimetilsulfóxido

55

TLC: Cromatografía de Capa Delgada

RT: temperatura ambiente

60

hGlu: ácido homoglutámico

$\alpha$ -Asp: Forma L de -HNCH(CO-)CH<sub>2</sub>COOH

$\beta$ -Asp: Forma L de -HNCH(COOH)CH<sub>2</sub>CO-

65

$\alpha$ -Glu: Forma L de -HNCH(CO-)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH

$\gamma$ -Glu: Forma L de  $-\text{HNCH}(\text{COOH})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}-$

$\alpha$ -hGlu: Forma L de  $-\text{HNCH}(\text{CO}-)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$

5  $\delta$ -hGlu: Forma L de  $-\text{HNCH}(\text{COOH})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}-$

$\beta$ -Ala:  $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$

Sar: sarcosina (N-metilglicina)

10

Degludec: insulina humana  $\text{N}^{\text{E}B29}-(\text{N}^\alpha-(\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-L-Glu}) \text{des}(\text{B}30)$

AspB28: análogo de insulina humana que tiene Asp en la posición B28

15 IDegAsp: combinación de insulina humana  $\text{N}^{\text{E}B29}-(\text{N}^\alpha-(\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-L-Glu}) \text{des}(\text{B}30)$  y AspB28

DegludecPlus: combinación de insulina humana  $\text{N}^{\text{E}B29}-(\text{N}^\alpha-(\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-L-Glu}) \text{des}(\text{B}30)$  y AspB28 OAD: antidiabético oral

20 La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos que, sin embargo, no deben interpretarse como limitantes del alcance de la protección.

### EJEMPLOS

25 Introducción

Para investigar el efecto clínico de cualquier producto de insulina, debe realizarse un ensayo clínico en condiciones que representen el modo de uso de la invención. Los ensayos clínicos que investigan compuestos para el tratamiento de la diabetes con el propósito de obtener su aprobación y registro están sujetos a las directrices proporcionadas por las autoridades regionales (la directriz europea sirve como ejemplo: Nota para la Guía sobre investigaciones clínicas de productos medicinales en el tratamiento de la diabetes mellitus, EMEA, Londres, 2002).

30

Un ejemplo de un producto de tipo insulina con una duración prolongada de la acción es la insulina humana LysB29( $\text{N}\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) correspondiente a la insulina humana  $\text{N}^{\text{E}B29}-(\text{N}^\alpha-(\text{HOOC}(\text{CH}_2)_{14}\text{CO})-\gamma\text{-L-Glu}) \text{des}(\text{B}30)$  (Ejemplo 1 en el documento WO 2005/012347). En ocasiones este compuesto se denomina insulina humana LysB29( $\text{N}\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30).

35

En los Ejemplos de la presente invención (Ejemplos Clínicos 4 y 5), la combinación de la insulina humana LysB29( $\text{N}\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) e IAsp se investigó con respecto al efecto clínico con la administración a diferentes horas de comida.

40

Se descubrió sorprendentemente que un control beneficioso de la glucemia (como se define en la presente descripción) puede lograrse mediante la administración de la combinación de la presente invención a la misma hora o alrededor de la hora de la comida más grande, típicamente desde un poco antes, tal como aproximadamente 30 minutos antes, o hasta un poco después, tal como aproximadamente 30 minutos después.

45

Los Ejemplos Preparativos 1 a 37 se derivan del documento EP2275439 y se presentan con propósitos informativos dado que proporcionan información antecedente relacionada con la presente invención.

50 Los Ejemplos Clínicos 1 a 4 se derivan del documento PCT/EP2011/068870 y se presentan con propósitos informativos dado que proporcionan información antecedente relacionada con la presente invención.

En los Ejemplos de Estudios Farmacológicos se presentan los ensayos (I), (II) y (III). Estos ensayos son útiles para determinar las propiedades acerca de los compuestos de tipo insulina. Se presentan los resultados para algunos compuestos de tipo insulina que son adecuados para el uso como los primeros compuestos de tipo insulina en la combinación de la presente invención.

55

En el Ejemplo de Estudios de Hidrofobicidad se presentan datos de hidrofobicidad para algunos compuestos de tipo insulina que son adecuados para el uso como los primeros compuestos de tipo insulina en la combinación de la presente invención.

60

Ejemplos preparativos

Ejemplo preparativo 1

65

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N<sup>α</sup>-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO)-γ-Glu) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 1 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

5 Ejemplo preparativo 2

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N<sup>α</sup>-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO)-γ-Glu) des(B30)

10 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 2 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 3

15 Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N<sup>α</sup>-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO)-γ-Glu-N-(γ-Glu)) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 3 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

20 Ejemplo preparativo 4

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N<sup>α</sup>-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO)-γ-L-Glu) des(B30)

25 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 4 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 5

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N<sup>α</sup>-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO)-γ-L-Glu) des(B30)

30 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 5 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 6

35 Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-(L-Asp-OC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO)-γ-L-Glu) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 6 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

40 Ejemplo preparativo 7

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-(L-Glu-OC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO)-γ-L-Glu) des(B30)

45 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 7 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 8

50 Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-(L-Glu-OC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO)-) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 8 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

55 Ejemplo preparativo 9

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO-α-L-Glu)-N-(β-L-Asp) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 9 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

60 Ejemplo preparativo 10

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>15</sub>CO-γ-L-Glu) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 10 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 11

5

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-(Gly-OC(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>CO-γ-L-Glu) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 11 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

10

Ejemplo preparativo 12

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-(L-Sar-OC(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>CO-γ-L-Glu) des(B30)

15 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 12 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 13

20 Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO-α-L-Asp)-N-(β-L-Asp) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 13 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

25 Ejemplo preparativo 14

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-(Gly-OC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO-γ-L-Glu) des(B30)

30 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 14 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 15

35 Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO-β-L-Asp) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 15 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

40 Ejemplo preparativo 16

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO-β-L-Asp) des(B30)

45 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 16 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 17

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-(Gly-OC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO-γ-L-Glu) des(B30)

50 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 17 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 18

55 Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO-ε-L-LysCO-) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 18 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

60 Ejemplo preparativo 19

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO-α-L-Glu) des(B30)

65 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 19 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 20

Síntesis de insulina humana N<sup>εB29</sup>-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO-α-L-Asp) des(B30)

- 5 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 20 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 21

- 10 Síntesis de insulina humana N<sup>εB29</sup>-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>15</sub>CO-β-L-Asp) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 21 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

- 15 Ejemplo preparativo 22

Síntesis de insulina humana N<sup>εB29</sup>-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO-γ-D-Glu) des(B30)

- 20 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 22 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 23

- 25 Síntesis de insulina humana N<sup>εB29</sup>-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO-δ-L-Aad) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 23 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

- 30 Ejemplo preparativo 24

Síntesis de insulina humana N<sup>εB29</sup>-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>CO-β-L-Asp) des(B30)

- 35 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 24 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 25

Síntesis de insulina humana N<sup>εB29</sup>-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>13</sub>CO-β-L-Glu) des(B30)

- 40 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 25 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 26

- 45 Síntesis de insulina humana N<sup>εB29</sup>-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO-β-D-Asp) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 26 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

- 50 Ejemplo preparativo 27

Síntesis de insulina humana N<sup>εB29</sup>-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO-β-D-Asp) des(B30)

- 55 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 27 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 28

- 60 Síntesis de insulina humana N<sup>εB29</sup>-(N-HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO-IDA) des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 28 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

- 65 Ejemplo preparativo 29

Síntesis de insulina humana N<sup>εB29</sup>-[N-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO)-N-(carboximetil)-β-Ala] des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 29 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

5 Ejemplo preparativo 30

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-[N-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO)-N-(2-carboxietil)-Gly] des(B30)

10 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 30 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 31

15 Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-[N-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO)-N-(carboxietil)-Gly] des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 31 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

20 Ejemplo preparativo 32

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-[N-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO)-N-(carboximetil)-β-Ala] des(B30)

25 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 32 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 33

30 Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-[N<sup>α</sup>-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>)NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CO)-γ-L-Glu] des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 33 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 34

35 Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-[N<sup>α</sup>-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>)NHCO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO)-γ-L-Glu] des(B30)

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 34 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

40 Ejemplo preparativo 35

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-[N<sup>α</sup>-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO)]-Gly-γ-L-Glu des(B30)

45 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 35 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Ejemplo preparativo 36

50 Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-[N-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>CO)-N-(2-carboxietil)-β-Ala] des B30

Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 36 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

55 Ejemplo preparativo 37

Síntesis de insulina humana N<sup>ε</sup>B29-[N-(HOOC(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CO)-N-(2-carboxietil)-β-Ala] des B30

60 Un método de preparación de este compuesto se describe en el ejemplo 37 de la solicitud de patente WO2005/012347, que se incorpora en la presente descripción como referencia.

Estudios farmacológicos

Ensayo (I)

65 Unión al receptor de insulina de los derivados de insulina de la invención

La afinidad de los compuestos de tipo insulina para el uso en la presente invención por el receptor de insulina humana se determinó mediante un ensayo de captura de anticuerpos en placa de microtitulación con ensayo SPA (ensayo de centelleo por proximidad). Las microesferas de unión a anticuerpo SPA-PVT, reactivo anti-ratón (Amersham Biosciences, núm. de Catálogo PRNQ0017) se mezclaron con 25 ml de tampón de unión (100 Mm de HEPES pH 7,8; 100 Mm de cloruro sódico, 10 mM de MgSO<sub>4</sub>, 0,025 % de Tween-20). La mezcla de reactivos para una sola placa Packard Optiplat (Packard núm. 6005190) se compone de 2,4 ml de un receptor de insulina humano recombinante purificado diluido 1:5000 - exón 11, una cantidad de una solución madre de insulina humana en A14 Tyr con [<sup>125</sup>I] correspondiente a 5000 cpm por 100 ml de mezcla de reactivos, 12 ml de una dilución 1:1000 de anticuerpo F12, 3 ml de microesferas de SPA y tampón de unión para un total de 12 ml. Después se añadió un total de 100 ml y se hizo una serie de diluciones a partir de muestras adecuadas. Después se añadió 100 ml de mezcla de reactivos a la serie de diluciones y las muestras se incubaron durante 16 horas mientras se agitaban suavemente. Después las fases se separaron por centrifugación durante 1 min y las placas se contaron en un instrumento Topcounter. Los datos de unión se ajustaron con el uso del algoritmo de regresión no lineal en el programa GraphPad Prism 2.01 (GraphPad Software, San Diego, CA).

Preparación de anticuerpos monoclonales mIR

Los anticuerpos específicos (F12) se produjeron por técnica monoclonal: Se inmunizaron ratones RBF por inyección por vía subcutánea de 50 mg de mIR purificado en FCA seguido de dos inyecciones con 20 mg de mIR en FIA. Los ratones con respuesta alta se reforzaron por vía intravenosa con 25 mg de mIR y los bazos se cosecharon después de 3 días. Las células esplénicas se fusionaron con la línea celular Fox de mieloma (Kohler, G & Milstein C. (1976), European J. Immunology, 6:511-19; Taggart RT y otros (1983), Science 219:1228-30). Los sobrenadantes se cribaron para detectar la producción de anticuerpos en un ELISA específico de mIR. Los pocillos positivos se clonaron y se sometieron a prueba en transferencia Western.

Tabla 1

Producto	Unión al receptor (% de insulina humana)
Insulina humana	100
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	26
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	9,2
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-γ-Glu-N-(γ-Glu) des(B30)	11
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-(Asp-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO)- γ-Glu) des(B30)	13
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-(Glu-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	13
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-(Glu-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-) des(B30)	9,4
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-α-Glu)-N-(β-Asp) des(B30)	11
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-(Gly-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	22
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-(Sar-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	20
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO- α -L-Asp)-N-(β-L-Asp) des(B30)	14
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-(Gly-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	32
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> CO-γ-L-Glu) des(B30)	4
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-β-L-Asp) des(B30)	16
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-β-D-Asp) des(B30)	37
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> CO-β-L-Glu) des(B30)	15
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> CO-β-L-Asp) des(B30)	11
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-δ-L-Aad) des(B30)	7
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-γ-D-Glu) des(B30)	13
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> CO-β-L-Asp) des(B30)	5,4
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-α-L-Asp) des(B30)	13
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-α-L-Glu) des(B30)	16
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-(HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-ε-L-LysCO-) des(B30)	5,7
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-β-L-Asp) des(B30)	11
insulina humana N <sup>εB29</sup> -(N-(Gly-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-γ-L-Glu) des(B30)	9,1



insulina humana N <sup>ε</sup> B29-[N-(HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO)-N-(carboximetil)-β-Ala] des(B30)	9,4
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-[Nα-(HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> )NHCO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CO)- γ-L-Glu] des(B30)	46

5 Ensayo (II)

Potencia de los derivados de insulina de la invención respecto a la insulina humana

10 Se usaron ratas Sprague Dawley machos con un peso de 238-383 g en el día experimental para el experimento de pinza. Las ratas tuvieron acceso libre al alimento en condiciones ambientales controladas y se dejaron en ayunas durante toda la noche (a partir de las 3 pm) antes del experimento de pinza.

Protocolo experimental

15 Las ratas se aclimataron en las instalaciones para animales durante al menos 1 semana antes del procedimiento quirúrgico. Aproximadamente 1 semana antes del experimento de pinza se insertaron catéteres Tygon bajo anestesia con halotano en la vena yugular (para la infusión) y la arteria carótida (para la toma de muestra de sangre) y se exteriorizaron y fijaron en la parte posterior del cuello. Se proporcionó estreptocilina veterinaria a las ratas (Boehringer Ingelheim; 0,15 ml/rata, i.m.) después de la cirugía y estas se colocaron en una unidad de cuidado animal (25 °C) durante el período de recuperación. Para obtener la analgesia, se administró Anorphin (0,06 mg/rata, s.c.) durante la anestesia y se administró Rimadyl (1,5 mg/kg, s.c.) después de la recuperación completa de la anestesia (2-3 h) y nuevamente una vez al día durante 2 días.

25 La técnica de pinza empleada se adaptó de (1). A las 7 am en el día experimental las ratas que ayunaron durante toda la noche (a partir de las 3 pm del día anterior) se pesaron y se conectaron a las jeringas de toma de muestra y al sistema de infusión (bombas Harvard 22 Basic, Harvard, y jeringa de vidrio hipodérmica Perfectum, Aldrich) y después se colocaron en jaulas de sujeción individuales donde reposaron durante aprox. 45 min antes del inicio del experimento. Las ratas pudieron moverse libremente en su lecho habitual durante todo el experimento y tuvieron acceso libre al agua potable. Después de un período basal de 30 min durante el cual los niveles de glucosa plasmática se midieron a intervalos de 10 min, el derivado de insulina a probar y la insulina humana (un nivel de dosis por rata, n = 6-7 por nivel de dosis) se infundieron (i.v.) a una tasa constante durante 300 min. Los niveles de glucosa plasmática se midieron a intervalos de 10 min y la infusión de glucosa acuosa al 20 % se ajustó en consecuencia para mantener la euglucemia. Las muestras de eritrocitos resuspendidos de cada rata se combinaron y se devolvieron en volúmenes de aproximadamente 0,5 ml mediante el catéter de la carótida.

35 En cada día experimental, se tomaron muestras de las soluciones de los derivados de insulina individuales a probar y la solución de insulina humana antes y al final de los experimentos de pinza y las concentraciones de los péptidos se confirmaron por HPLC. Las concentraciones plasmáticas de péptido C e insulina de rata así como también del derivado de insulina a probar y la insulina humana se midieron en puntos de tiempo relevantes antes y al final de los estudios. Las ratas se sacrificaron al final del experimento con el uso de una sobredosis de pentobarbital.

45 Compuestos de prueba y dosis: Los compuestos de tipo insulina para el uso en la presente invención a probar se diluyeron a partir de una solución madre que contiene 97 mM del derivado de insulina en 5 mM de fosfato pH 7,7. La concentración final en la solución lista para el uso fue 0,45 mM del derivado de insulina, 5 mM de fosfato, 100 mM de cloruro sódico, 0,007 % de polisorbato 20. El pH fue 7,7 y la tasa de infusión i.v. fue 15 y 20 pmol·min<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup>.

Una solución madre de insulina humana que se usó como compuesto de referencia se formuló en un medio similar y se infundió por vía i.v. a 6, 15 o 30 pmol·min<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup>.

50 Ambas soluciones madre se almacenaron a -20 °C y se descongelaron durante toda la noche a 4 °C antes del uso. Las soluciones se voltearon suavemente varias veces 15 min antes de transferirlas a las jeringas de infusión.

Tabla 2

Derivado de insulina	Potencia respecto a la insulina humana
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	>50 %
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	>50 %
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-γ-Glu-N-(γ-Glu) des(B30)	>50 %
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-β-L-Asp) des(B30)	>50 %
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-(Gly-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	>50 %
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-β-L-Asp) des(B30)	>50 %

Ensayo (III)

Determinación en cerdos del T<sub>50%</sub> de los derivados de insulina de la invención

5 T<sub>50%</sub> es el tiempo en el que el 50 % de una cantidad inyectada del derivado etiquetado en A14 Tyr con [<sup>125</sup>I] de un compuesto de tipo insulina a probar para el uso en la presente invención ha desaparecido del sitio de inyección como se mide con un contador de radiación  $\gamma$  externo.

10 Se siguieron los principios de cuidado de los animales de laboratorio, se usaron cerdos hembras no diabéticas LYYD, libres de patógenos específicos, descendientes del cruzamiento de Landrace danés, Yorkshire y Duroc (Holmenlund, Haarloev, Dinamarca) para los estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos. Los cerdos estaban conscientes, tenían 4-5 meses de edad y un peso de 70-95 kg. Los animales se dejaron en ayunas durante toda la noche durante 18 h antes del experimento.

15 Las preparaciones formuladas de compuestos de tipo insulina para el uso en la presente invención etiquetados en Tyr<sup>A14</sup> con <sup>125</sup>I se inyectaron por vía s.c. en los cerdos como se describió anteriormente (Ribel, U., Jorgensen, K, Brange, J, y Henriksen, U. The pig as a model for subcutaneous insulin absorption in man. Serrano-Rios, M y Lefèbvre, P. J. 891-896. 1985. Amsterdam; Nueva York; Oxford, Elsevier Science Publishers. 1985 (Acta de Congreso)).

20 Al comienzo de los experimentos una dosis de 60 nmol de los compuestos de tipo insulina para el uso en la presente invención (compuesto de prueba) y una dosis de 60 nmol de insulina detemir (ambos etiquetados con <sup>125</sup>I en Tyr A14) se inyectaron en dos sitios separados en el cuello de cada cerdo.

25 La desaparición de la etiqueta radioactiva del sitio de inyección sc. se monitoreó con el uso de una modificación del método tradicional de recuento de radiación gamma externo (Ribel, U. Subcutaneous absorption of insulin analogues. Berger, M. y Gries, F. A. 70-77 (1993). Stuttgart; Nueva York, Georg Thime Verlag (Acta de Congreso)). Con este método modificado fue posible medir de manera continua la desaparición de la radiactividad de un depósito subcutáneo durante varios días con el uso de un dispositivo portátil inalámbrico (Scancys Laboratorieteknik, Værløse, DK-3500, Dinamarca). Las mediciones se realizaron a intervalos de 1 min, y los valores contados se corrigieron para la actividad de fondo.

35 En la Tabla 3, la columna "prueba/detemir" muestra el T<sub>50%</sub> encontrado para cada uno de los compuestos probados ("prueba") y el T<sub>50%</sub> encontrado para la insulina detemir ("detemir") en el mismo experimento.

Tabla 3

Derivado de insulina	T <sub>50%</sub> , horas de prueba/detemir
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO- $\gamma$ -Glu) des(B30)	9,0/9,5
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO- $\gamma$ -Glu) des(B30)	10,6/9,7
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO- $\gamma$ -Glu-N-( $\gamma$ -Glu) des(B30)	7,8/7,4
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-(Asp-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO)- $\gamma$ -Glu) des(B30)	3,5/7,4
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-Asp-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-) des(B30)	4,1/7,4
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO- $\alpha$ -Glu)-N-( $\beta$ -Asp) des(B30)	8,7/9,1

Estudios de hidrofobicidad

50 Datos de hidrofobicidad de los compuestos de tipo insulina de la invención.

55 La hidrofobicidad (índice hidrófobo) de los compuestos de tipo insulina respecto a la insulina humana, k'<sub>rel</sub>, se midió en una columna de HPLC Lichrosorb RP18 (5 mm, 250x4 mm) por elución isocrática a 40 °C con el uso de mezclas de A) 0,1 M de tampón fosfato de sodio, pH 7,3, que contiene 10 % de acetonitrilo, y B) 50 % de acetonitrilo en agua como eluyentes. La elución se monitoreó por seguimiento de la absorción UV del eluato a 214 nm. El tiempo muerto, t<sub>0</sub>, se encontró mediante la inyección de 0,1 mM de nitrato de sodio. El tiempo de retención para la insulina humana, t<sub>humana</sub>, se ajustó al menos a 2t<sub>0</sub> mediante la variación de la relación entre las soluciones A y B. k'<sub>rel</sub> = (t<sub>derivado</sub>-t<sub>0</sub>)/(t<sub>humana</sub>-t<sub>0</sub>). Los valores de k'<sub>rel</sub> encontrados para una serie de derivados de insulina de acuerdo con la invención se proporcionan en la Tabla 4.

Tabla 4

Derivado de insulina	k' <sub>rel</sub>
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO- $\gamma$ -Glu) des(B30)	0,87
insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO- $\gamma$ -Glu) des(B30)	1,15

	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	0,45
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-γ-Glu-N-(γ-Glu) des(B30)	1,17
5	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-(Asp-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO)- γ-Glu) des(B30)	0,70
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-(Glu-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	0,33
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-(Glu-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-) des(B30)	1,17
10	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-α-Glu)-N-(β-Asp) des(B30)	1,11
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-(Gly-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	0,58
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-(Sar-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	0,63
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-α-Glu)-N-(AspAsp) des(B30)	1,07
15	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-(Gly-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-γ-Glu) des(B30)	0,88
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> CO-γ-L-Glu) des(B30)	1,13
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-β-L-Asp) des(B30)	0,69
20	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> CO-β-L-Glu) des(B30)	0,54
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> CO-β-L-Asp) des(B30)	0,47
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-δ-L-Aad) des(B30)	0,84
25	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-γ-D-Glu) des(B30)	1,4
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>15</sub> CO-β-L-Asp) des(B30)	1,09
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-α-L-Asp) des(B30)	1,49
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-α-L-Glu) des(B30)	1,51
30	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-(HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> CO-ε-L-LysCO-) des(B30)	0,90
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-β-L-Asp) des(B30)	1,54
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-(N-(Gly-OC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO-γ-L-Glu) des(B30)	1,57
35	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-[N-(HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> CO)-N-(carboximetil)-β-Ala] des(B30)	1,13
	insulina humana N <sup>ε</sup> B29-[Nα-(HOOC(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> )NHCO(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CO)- γ-L-Glu] des(B30)	0,42

Estudios clínicos - ejemplos clínicos 1-4

40 Ejemplo clínico 1

Pinza de estado de equilibrio - Investigación del perfil de actividad y la duración de la acción de la insulina humana LysB29(N<sup>ε</sup>-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30).

45 Metodología

La investigación se realizó como un ensayo cruzado de dos períodos, unicéntrico, doble ciego, aleatorizado, para comparar los perfiles de actividad de la insulina humana LysB29(N<sup>ε</sup>-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) y la insulina glargina (IGlar) en sujetos con diabetes tipo 1.

50 Los sujetos se aleatorizaron a diferentes secuencias de administración de múltiples dosis subcutáneas (s.c.) una vez al día de insulina humana LysB29(N<sup>ε</sup>-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e IGLar. Las dosis fueron 0,57 U/kg o 0,85 U/kg de insulina humana LysB29(N<sup>ε</sup>-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) y 0,4 U/kg o 0,6 U/kg de IGLar. Los sujetos se trataron durante 8 días por cada período de dosificación. Hubo un período de reposo farmacológico que duró 10-20 días entre los dos períodos de dosificación.

60 El último día de cada período de dosificación los sujetos recibieron una infusión intravenosa controlada de glucosa e insulina humana soluble (Actrapid®) durante 8-4 horas antes de la administración del fármaco del ensayo para mantener estable la concentración de glucosa en sangre a un nivel de 100 mg/dl (5,5 mmol/L), es decir, se inició una pinza euglucémica con un nivel de glucosa en sangre objetivo de 100 mg/dl (5,5 mmol/L). La pinza euglucémica se terminó a las 42 horas después de la dosificación pero antes si los niveles de glucosa en sangre aumentaban hasta concentraciones por encima de 200 mg/dl (11,1 mmol/L) sin infusión de glucosa durante los últimos 30 min.

## ES 2 724 731 T3

Las muestras de sangre para la medición de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) sérica/IGlar en plasma, y glucosa en sangre se extrajeron antes de la dosificación y hasta durante 146 horas después de la dosificación.

5 Se realizaron las evaluaciones de seguridad estándar.

Número de sujetos

21 sujetos completaron el ensayo.

10

Diagnóstico y criterios principales para la inclusión

15 Sujetos hombres o mujeres con diabetes tipo 1 ( $\geq 12$  meses) con edades de 18-69 años (incluidas), con hemoglobina glucosilada (HbA<sub>1c</sub>)  $\leq 10$  % y tratados normalmente con insulina ( $\leq 1,2$  U/kg/día). Los sujetos deben haberse tratado con insulina  $\geq 12$  meses y tener un índice de masa corporal (BMI) de 18-28 kg/m<sup>2</sup> (incluidos) y un péptido C en ayunas  $< 0,3$  nmol/L.

Producto de prueba, dosis y modo de administración

20 Múltiples dosis de 0,57 U/kg o 0,85 U/kg de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30), 600 nmol/ml, insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30), suministradas en cartucho FlexPen® de 3 ml (100 DU/ml) con el uso de agujas NovoFine® 30G, de 8 mm.

Duración del tratamiento

25

Múltiples dosis de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e IGlár se administraron con el uso de durante dos periodos de dosificación diferentes de 8 días de duración (opcionalmente +1-5 días) a intervalos de 10-20 días.

30 Terapia de referencia, dosis y modo de administración

Múltiples dosis (0,4 U/kg o 0,6 U/kg) de IGlár (Lantus®), 100 IU/ml, 600 nmol/ml suministradas en 3,0 ml con cartuchos Optiset® de 3 ml e inyectadas por vía s.c. en el muslo con el uso de PenFine® 31G, de 8 mm.

35 Criterios de evaluación - Eficacia

Farmacodinámica:

40 - Tasa de infusión de glucosa (GIR) durante una pinza euglucémica de 42 horas durante el 8<sup>vo</sup> y último día de dosificación.

- Concentraciones de glucosa en sangre.

Farmacocinética:

45

- Concentraciones de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) sérica/IGlar en plasma durante 144 horas después de una dosis única de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) o IGlár.

Criterio de valoración principal:

50

- AUCGIR(0-24h), el área bajo la curva (AUC) de la curva de GIR de 0 a 24 horas

Criterios de valoración secundarios fundamentales:

55

- Nivel de glucosa en sangre durante el período de pinza euglucémica

- Farmacocinética (tmáx, semivida terminal)

Demografía de la población del ensayo

60

Los 35 sujetos hombres y 7 mujeres con diabetes tipo 1 tenían una edad promedio de 40 años, respectivamente, el peso promedio fue de 75 kg, la HbA<sub>1c</sub> media fue 7,8 %, y tenían una duración media de la diabetes de 21 años.

Resultados fundamentales

65

- 5 - El AUCGIR(0-24h) para la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30), no captó la acción insulínica total, dado que todavía estaban presentes niveles pronunciados de GIR en el punto de tiempo de 24 horas. Los niveles de GIR a las 24 horas fueron aproximadamente 2,0 y 3,0 mg/kg/min para la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) después de la dosis baja o alta, respectivamente. Los valores correspondientes para la insulina glargina fueron aproximadamente 0,8 y 1,8 mg/kg/min.
- 10 - La GIR<sub>máx</sub> media fue mayor para IGLar (5,6 y 4,2 mg/kg/min) que para la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) (4,68 y 4,02 mg/kg/min, respectivamente), después de la dosis más alta pero GIR<sub>máx</sub> fue igual después de las dosis más bajas (3,07 mg/kg/min).
- 15 - El tiempo de GIR medio hasta GIR<sub>máx</sub> fue mayor para la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) (13,2 horas y 6,1 para dosis baja y alta respectivamente) que para IGLar (5,0 y 4,1 horas para dosis baja y alta, respectivamente)
- 20 - El pico medio respecto a los intervalos de valores más bajos fue menor para la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) que después de la insulina glargina. Los valores fueron 1,0 y 0,7 mg/kg/min después de la dosis baja y alta, respectivamente. Para la insulina glargina los valores correspondientes fueron 1,6 y 1,1 mg/kg/min.
- 25 - El tiempo promedio hasta la pérdida del control de la glucosa fue mayor para la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) que para glargina a ambos niveles de dosis. Esto se produjo después de aproximadamente 40 horas después de la dosis baja de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) y no se observó pérdida significativa del control de la glucosa (definida como un aumento de la glucosa en sangre de más de unos 10 mg/dl) en el punto de tiempo de 42 horas después de la dosis alta de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30). Después de la dosificación de la insulina glargina se produjo la pérdida del control de la glucosa después de aproximadamente 24 horas y 26 horas cuando se administró la dosis baja y alta, respectivamente.
- 30 - El tiempo medio hasta la concentración máxima (C<sub>máx</sub>) fue menor para la insulina glargina que para la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30). Para la insulina glargina los valores fueron 7,2 y 6,4 horas mientras que los valores para la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) fueron 9,2 y 10,1 horas después de la dosis intermedia y alta, respectivamente.
- 35 - La semivida terminal media fue de 25,2 horas (IC de 95 % 23 a 28 horas) para la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) y 13,9 horas (IC de 95 % 13 a 15) para IGLar.

#### Resultados de seguridad fundamentales

40 En general, la administración de múltiples dosis de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e IGLar, respectivamente, se toleró bien en los sujetos con diabetes tipo 1.

#### Conclusiones fundamentales

45 La insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) pareció tener un perfil de acción más plano y más prolongado y una mayor duración de la acción en comparación con IGLar como se evidencia por las características del perfil de GIR. Los datos muestran que la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) tiene una GIR<sub>máx</sub> menor a una dosis comparable, un tiempo mayor hasta GIR<sub>máx</sub> a ambos niveles de dosis y un pico menor respecto al intervalo de valores más bajos. La duración de la acción de la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) en las presentes circunstancias fue aproximadamente 40 horas o más. Los datos muestran que la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) tiene la capacidad de controlar la glucosa en sangre durante un período más prolongado. Las conclusiones basadas en los datos de actividad (farmacodinámica) están respaldadas por los datos farmacocinéticos (tiempo mayor hasta la C<sub>máx</sub> y semivida terminal media mayor).

#### 55 Ejemplo clínico 2

Investigación del efecto clínico de la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) administrada una vez al día con intervalos variables.

#### 60 Elementos metodológicos y resultados fundamentales

El ensayo se diseñó para evaluar la viabilidad, eficacia, seguridad y tolerabilidad de la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) (600 nmol/ml) para el tratamiento de sujetos con diabetes tipo 2 una vez al día con intervalos de inyección variables (inyección flexible). El tratamiento consistió en la administración de insulina con o

sin metformina y/o sulfonilurea y/o pioglitazona, en sujetos con diabetes tipo 2 que fracasaron en el tratamiento con insulina o el tratamiento con antidiabéticos orales (OAD) o la combinación de tratamiento con insulina y OAD. La viabilidad de los intervalos de inyección variables (es decir, inyección flexible) con insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) se investigó haciendo que los sujetos participantes se inyectaran en la mañana (entre el despertar y el desayuno) los lunes, miércoles y viernes, mientras que los martes, jueves, sábados y domingos se inyectaban en la noche (entre la comida nocturna y la hora de acostarse) como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5

Régimen de dosificación para inyección flexible							
	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábados	Domingos
Hora de administración	Mañana <sup>1</sup>	Noche <sup>2</sup>	Mañana	Noche	Mañana	Noche	Noche

<sup>1</sup>) La mañana se define entre el despertar y el desayuno  
<sup>2</sup>) La noche se define entre la comida nocturna y la hora de acostarse.

Objetivo principal

Evaluar el control de la glucosa con respecto a la HbA1c después de 26 semanas de tratamiento con insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con intervalos de inyección variables (inyección flexible), insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día proporcionada con la comida nocturna o insulina glargina una vez al día proporcionada a la misma hora cada día (de acuerdo con la etiqueta aprobada), todas en combinación con metformina y/o sulfonilurea y/o pioglitazona en sujetos con diabetes tipo 2 que fracasaron en el tratamiento con insulina o el tratamiento con antidiabéticos orales (OAD) o la combinación de tratamiento con insulina y OAD.

Materiales y Métodos

El ensayo se realizó en sujetos con diabetes tipo 2, tratados previamente con uno o más de los agentes antidiabéticos orales: metformina, sulfonilurea, pioglitazona o con cualquier tratamiento con insulina basal o la combinación de los OAD especificados y cualquier tratamiento con insulina basal. En el momento de la aleatorización, los sujetos continuaron su tratamiento con OAD (si hubiera alguno), a la vez que añadieron, iniciaron o cambiaron a la insulina basal insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con intervalos de inyección variables o insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna o insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día (de acuerdo con la etiqueta).

[0226] Un total de 687 sujetos con diabetes tipo 2, de 56 años de edad, duración media de la diabetes de 10,6 años, BMI promedio de 29,6 kg/m<sup>2</sup>, FPG media de 8,9 mmol/L, y HbA<sub>1c</sub> media de 8,4 % se aleatorizaron (1:1:1) para recibir insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día proporcionada con intervalos de inyección variables (229 sujetos) o insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día proporcionada con la comida nocturna (228 sujetos) o insulina glargina una vez al día (230 sujetos), solas o en combinación con metformina y/o SU y/o pioglitazona, durante un período de tratamiento de 26 semanas.

Las combinaciones específicas de tratamiento con OAD e insulina antes de la aleatorización pueden observarse en la Tabla 12.

Los tipos de insulina usados antes de la aleatorización a los productos de insulina del estudio se muestran en la Tabla 6.

En la Tabla 7 se muestran los OAD usados antes y durante el experimento.

Tabla 6 - Insulina en el momento del cribado - Resumen - Grupo completo de análisis

	IDeg OD FF		IDeg OD		IGlar OD		Total	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Número de sujetos	229		228		230		687	
Insulina basal	96	(41,9)	96	(42,1)	96	(41,7)	288	(41,9)
IDet	19	(8,3)	21	(9,2)	21	(9,1)	61	(8,9)
IGlar	43	(18,8)	41	(18,0)	30	(13,0)	114	(16,6)
Insulina NPH	34	(14,8)	34	(14,9)	45	(19,6)	113	(16,4)

ES 2 724 731 T3

	Insulina en bolo		1	(0,4)	1	(0,1)
	IAsp		1	(0,4)	1	(0,1)
5	Premezcla	1	(0,4)		1	(0,1)

N: Número de sujetos

%: Proporción de sujetos

Los sujetos pueden usar más de un tipo de insulina dentro de cada grupo

Insulina NPH: Protamina neutra Hagedorn

Tabla 7 - Tipo de tratamiento con OAD al inicio y al final del ensayo

15	Ensayo (semanas)	IDeg				IGlar			
		Inicio		Final del ensayo		Inicio		Final del ensayo	
		N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)
	3668 (26) FF								
20	Biguanida	207	(90,4)	206	(90,0)	211	(91,7)	212	(92,2)
	Metformina	207	(90,4)	206	(90,0)	211	(91,7)	212	(92,2)
	Inhibidor de DPP-4					1	(0,4)	1	(0,4)
25	Sitagliptina					1	(0,4)	1	(0,4)
	Glinida	10	(4,4)	10	(4,4)	8	(3,5)	7	(3,0)
	Repaglinida	10	(4,4)	10	(4,4)	8	(3,5)	7	(3,0)
30	Sulfonilurea	159	(69,4)	156	(68,1)	157	(68,3)	155	(67,4)
	Glibenclamida	55	(24,0)	54	(23,6)	57	(24,8)	55	(23,9)
	Gliclazida	43	(18,8)	41	(17,9)	39	(17,0)	39	(17,0)
	Glimepirida	56	(24,5)	56	(24,5)	54	(23,5)	54	(23,5)
35	Glipizida	5	(2,2)	5	(2,2)	7	(3,0)	7	(3,0)
	Tiazolidinediona	13	(5,7)	12	(5,2)	17	(7,4)	16	(7,0)
40	Pioglitazona	13	(5,7)	12	(5,2)	16	(7,0)	15	(6,5)
	Rosiglitazona					1	(0,4)	1	(0,4)
	3668 (26)								
45	Biguanida	205	(89,9)	205	(89,9)				
	Metformina	205	(89,9)	205	(89,9)				
50	Glinida	14	(6,1)	13	(5,7)				
	Repaglinida	14	(6,1)	13	(5,7)				
55	Sulfonilurea	136	(59,6)	136	(59,6)				
	Glibenclamida	51	(22,4)	50	(21,9)				
	Gliclazida	37	(16,2)	37	(16,2)				
	Glimepirida	44	(19,3)	44	(19,3)				
60	Glipizida	4	(1,8)	4	(1,8)				
	Gliburida			1	(0,4)				
65	Tiazolidinediona	17	(7,5)	17	(7,5)				

	Glinida	14	(6,1)	13	(5,7)
	Repaglinida	14	(6,1)	13	(5,7)
5	Sulfonilurea	136	(59,6)	136	(59,6)
	Gliclazida	37	(16,2)	37	(16,2)
	Glimepirida	44	(19,3)	44	(19,3)
10	Glipizida	4	(1,8)	4	(1,8)
	Gliburida			1	(0,4)
	Tiazolidinediona	17	(7,5)	17	(7,5)
15	Pioglitazona	17	(7,5)	17	(7,5)

Ideg - insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30)

IGlar - insulina glargina,

FF: Inyección fija

20 Final del ensayo: la última visita del ensayo de un sujeto con exclusión de la visita de seguimiento

IGlar (3579, 3672, 3586, 3668) y Sita (3580)

Un sujeto puede tratarse con más de un OAD

25 Resultados de eficacia

HbA<sub>1c</sub>

La HbA<sub>1c</sub> al final del ensayo y el cambio en la HbA<sub>1c</sub> respecto al valor inicial al final del ensayo se proporcionan en la Tabla 8.

30 El intervalo de confianza del contraste entre tratamientos cuando se compara la insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) proporcionada con intervalos de inyección variables con los otros grupos de tratamiento estuvo dentro del límite de no inferioridad 0,4), que está dentro del límite de no inferioridad aceptado por la FDA (Guía para la industria Diabetes Mellitus: Desarrollo de fármacos y productos biológicos terapéuticos para el tratamiento y prevención, Guía preliminar, Departamento de servicios de salud y humanos del Centro de Administración de alimentos y fármacos para la investigación y evaluación de fármacos (CDER) Febrero de 2008) Por lo tanto, el grupo que recibió la insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) proporcionada con intervalos de inyección variables fue similar a los otros dos grupos de tratamiento con respecto a los cambios medios en la HbA<sub>1c</sub> respecto al valor inicial al final del tratamiento

(Tabla 8 y Tabla 9).

Tabla 8

HbA <sub>1c</sub> media después de 26 semanas de tratamiento				
	Inyección flexible de insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) una vez al día <sup>2</sup>	Insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna	Insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día	
50	HbA <sub>1c</sub> (%) después de 26 semanas de tratamiento <sup>1</sup>	7,2	7,3	7,1
55	Cambio medio respecto al valor inicial (%) (puntos) <sup>1</sup>	-1,28	-1,07	-1,26

<sup>1</sup>Medias aritméticas. <sup>2</sup>) La inyección flexible es como se definió en la Tabla 5.



Tabla 9

ANOVA <sup>1</sup> de HbA <sub>1c</sub> después de 26 semanas de tratamiento	
	Inyección flexible de insulina humana LysB29(Nε - hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día <sup>2</sup>
Diferencia entre tratamientos vs. insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día (HbA <sub>1c</sub> en % puntos [intervalo de confianza de 95 %])	0,04 [-0,12; 0,20]
Diferencia entre tratamientos vs. insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna (HbA <sub>1c</sub> en % puntos [intervalo de confianza de 95 %])	-0,13 [-0,29 ; 0,03]
<sup>1</sup> ) Resultados de ANOVA con tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado, sexo, región, edad y HbA <sub>1c</sub> inicial como variables explicativas. <sup>2</sup> ) La inyección flexible es como se definió en la Tabla 5.	

Hipoglucemia

Solo se informaron seis eventos hipoglucémicos severos durante el ensayo cf. Tabla 10.

Tabla 10

Perspectiva general de la hipoglucemia									
	Inyección flexible de insulina humana LysB29(Nε - hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día <sup>5</sup>			Insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día			Insulina humana LysB29(Nε - hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna		
Episodios hipoglucémicos <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	(%) <sup>3</sup>	E <sup>4</sup>	N	(%)	E	N	(%)	E
Severos	1	(0,4)	2	2	(0,9)	2	2	(0,9)	2
Sintomáticos documentados	149	(64,8)	841	124	(54,9)	770	139	(60,7)	803
Asintomáticos	162	(70,4)	879	159	(70,4)	991	161	(70,3)	892
Sintomáticos probables	20	(8,7)	30	15	(6,6)	29	18	(7,9)	32
Relativos	27	(11,7)	53	24	(10,6)	35	26	(11,4)	78
	Inyección flexible de insulina humana LysB29(Nε - hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día <sup>5</sup>			Insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día			Insulina humana LysB29(Nε - hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna		
Episodios hipoglucémicos <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	(%) <sup>3</sup>	E <sup>4</sup>	N	(%)	E	N	(%)	E
No clasificables	12	(5,2)	15	7	(3,1)	11	7	(3,1)	8
<sup>1</sup> ) Episodios hipoglucémicos definidos como: severo = episodio hipoglucémico donde otra persona tenía que administrar al sujeto el alimento, el glucagón o la glucosa i.v. debido a la disfunción severa del sistema nervioso central asociada con el episodio hipoglucémico, Sintomático documentado= episodio no severo con síntomas subjetivos y valor de glucosa plasmática por debajo de 3,9 mmol/L, Asintomático= episodio no severo y valor de glucosa plasmática por debajo de 3,9 mmol/L y sin síntomas, Sintomático probable= episodio no severo sin valor de glucosa plasmática pero con síntomas subjetivos, Relativo= episodio no severo con síntomas subjetivos y un valor de glucosa plasmática mayor que o igual a 3,9 mmol/L. <sup>2</sup> ) N: número de sujetos. <sup>3</sup> ) %: porcentaje de sujetos. <sup>4</sup> ) E: número de eventos. <sup>5</sup> ) La inyección flexible es como se definió en la Tabla 5.									

Dosis de insulina

Tabla 11

Dosis media diaria de insulina <sup>1</sup> después de 26 semanas de tratamiento			
5	Inyección flexible de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día <sup>2</sup>	Insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna	Insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día
10	Dosis diaria (U/kg)	0,55	0,52
1) Media aritmética. 2) La inyección flexible es como se definió en la Tabla 5.			

Conclusiones

Se descubrió sorprendentemente que con el uso de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30), que tiene una duración prolongada de la acción y un perfil de actividad sin picos y estable, los sujetos con diabetes tipo 2 se regularon lo suficiente con una dosificación una vez al día administrada con intervalos de inyección variables sola o en combinación con tratamiento con OAD.

En sujetos con diabetes tipo 2 que fracasan en el tratamiento con OAD y/o insulina, un tratamiento de 26 semanas con insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) proporcionada de manera flexible (con intervalos de inyección variables) con o sin metformina y/o sulfonilurea y/o pioglitazona, dio como resultado un control de la glucemia comparable (no inferior) y una incidencia de episodios hipoglucémicos comparable a lo observado para la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) proporcionada con la comida nocturna y al control de la glucemia y la incidencia de episodios hipoglucémicos observados para la insulina glargina proporcionada una vez al día a la misma hora cada día (de acuerdo con la etiqueta aprobada).

Ejemplo clínico 3

Investigación del efecto clínico de la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) administrada una vez al día con intervalos variables.

Elementos metodológicos y resultados fundamentales

El ensayo se diseñó para evaluar la viabilidad, eficacia, seguridad y tolerabilidad de la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) (600 nmol/ml) para el tratamiento de sujetos con diabetes tipo 1 una vez al día con intervalos de inyección variables (inyección flexible). El tratamiento consistió en la administración de la insulina basal insulina humana (LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) o insulina glargina) en combinación con inyecciones separadas de insulina en bolo, (insulina humana AspB28). La viabilidad de los intervalos de inyección variables (es decir, inyección flexible) con insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) se investigó haciendo que los sujetos participantes se inyectaran en la mañana (entre el despertar y el desayuno) los lunes, miércoles y viernes, mientras que los martes, jueves, sábados y domingos se inyectaban en la noche (entre la comida nocturna y la hora de acostarse) como se muestra en la Tabla 12.

Tabla 12

Régimen de dosificación para inyección flexible							
	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábados	Domingos
50	Hora de administración	Mañana <sup>1</sup>	Noche <sup>2</sup>	Mañana	Noche	Mañana	Noche
1) La mañana se define entre el despertar y el desayuno							
2) La noche se define entre la comida nocturna y la hora de acostarse.							

Objetivo principal

Evaluar el control de la glucosa con respecto a la HbA1c después de 26 semanas de tratamiento con insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con intervalos de inyección variables (inyección flexible), insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día proporcionada con la comida nocturna o insulina glargina una vez al día proporcionada a la misma hora cada día (de acuerdo con la etiqueta aprobada), todas en combinación con insulina humana AspB28 en sujetos con diabetes tipo 1.

Materiales y Métodos

El ensayo se realizó en sujetos con diabetes tipo 1, tratados previamente con insulina durante al menos 12 meses. En el momento de la aleatorización, los sujetos cambiaron a la insulina basal insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con intervalos de inyección variables o insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna o insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día (de acuerdo con la etiqueta) todas en combinación con la insulina humana AspB28.

Un total de 490 sujetos con diabetes tipo 1, de 56 años de edad, duración media de la diabetes de 10,6 años, BMI promedio de 29,6 kg/m<sup>2</sup>, FPG media de 8,9 mmol/L, y HbA<sub>1c</sub> media de 8,4 % se aleatorizaron (1:1:1) para recibir insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día proporcionada con intervalos de inyección variables (164 sujetos) o insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día proporcionada con la comida nocturna (165 sujetos) o insulina glargina una vez al día, proporcionada de acuerdo con la etiqueta, (161 sujetos) durante un período de tratamiento de 26 semanas.

El tratamiento específico con insulina antes de la aleatorización puede observarse en la Tabla 6. Los tipos de insulina usados antes de la aleatorización a los productos de insulina del estudio se muestran en la Tabla 7.

Resultados de eficacia

HbA<sub>1c</sub>

La HbA<sub>1c</sub> al final del ensayo y el cambio en la HbA<sub>1c</sub> respecto al valor inicial al final del ensayo se proporcionan en la Tabla 13. El intervalo de confianza del contraste entre tratamientos cuando se compara la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) proporcionada con intervalos de inyección variables con los otros grupos de tratamiento estuvo dentro del límite de no inferioridad de 0,4 (Tabla 14).

Tabla 13

HbA <sub>1c</sub> media después de 26 semanas de tratamiento			
	Inyección flexible de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día <sup>2</sup>	Insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna	Insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día
HbA <sub>1c</sub> (%) después de 26 semanas de tratamiento <sup>1</sup>	7,31	7,30	7,14
Cambio medio respecto al valor inicial (%) <sup>1</sup>	-0,40	-0,41	-0,57

<sup>1</sup>Medias aritméticas. <sup>2</sup> La inyección flexible es como se definió en la Tabla 5.

Tabla 14

ANOVA <sup>1</sup> de HbA <sub>1c</sub> después de 26 semanas de tratamiento	
	Inyección flexible de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día <sup>2</sup>
Diferencia entre tratamientos vs. insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día (HbA <sub>1c</sub> en % puntos [intervalo de confianza de 95 %])	0,17 [0,04; 0,30]
Diferencia entre tratamientos vs. insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna (HbA <sub>1c</sub> en % puntos [intervalo de confianza de 95 %])	0,01 [-0,13; 0,14]

<sup>1</sup>) Resultados de ANOVA con tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado, sexo, región, edad y HbA<sub>1c</sub> inicial como variables explicativas. <sup>2</sup>) La inyección flexible es como se definió en la Tabla 5.

La Tabla 15 muestra los eventos hipoglucémicos informados durante el ensayo.

Tabla 15

Perspectiva general de la hipoglucemia									
	Inyección flexible de insulina humana LysB29(Nε -hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día <sup>5</sup>			Insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día			Insulina humana LysB29(Nε -hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna		
Episodios hipoglucémicos <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	(%) <sup>3</sup>	E <sup>4</sup>	N	(%)	E	N	(%)	E
Severos	17	(10,4)	25	16	(9,9)	37	21	(12,7)	28
Sintomáticos documentados	154	(93,9)	7471	153	(95,0)	7964	161	(97,6)	9467
Asintomáticos	134	(81,7)	3982	131	(81,4)	3978	139	(84,2)	3763
Sintomáticos probables	26	(15,9)	64	24	(14,9)	124	28	(17,0)	171
Relativos	9	(5,5)	36	7	(4,3)	11	10	(6,1)	20
	Inyección flexible de insulina humana LysB29(Nε -hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día <sup>5</sup>			Insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día			Insulina humana LysB29(Nε -hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna		
Episodios hipoglucémicos <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	(%) <sup>3</sup>	E <sup>4</sup>	N	(%)	E	N	(%)	E
No clasificables	90	(54,9)	682	87	(54,0)	805	94	(57,0)	871

1) Episodios hipoglucémicos definidos como: severo = episodio hipoglucémico donde otra persona tenía que administrar al sujeto el alimento, el glucagón o la glucosa i.v. debido a la disfunción severa del sistema nervioso central asociada con el episodio hipoglucémico, Sintomático documentado= episodio no severo con síntomas subjetivos y valor de glucosa plasmática por debajo de 3,9 mmol/L, Asintomático= episodio no severo y valor de glucosa plasmática por debajo de 3,9 mmol/L y sin síntomas, Sintomático probable= episodio no severo sin valor de glucosa plasmática pero con síntomas subjetivos, Relativo= episodio no severo con síntomas subjetivos y un valor de glucosa plasmática mayor que o igual a 3,9 mmol/L. 2) N: número de sujetos. 3) %: porcentaje de sujetos. 4) E: número de eventos. 5) La inyección flexible es como se definió en la Tabla 5.

Dosis de insulina

Tabla 16

Dosis media diaria de insulina <sup>1</sup> después de 26 semanas de tratamiento			
	Inyección flexible de insulina humana LysB29(Nε -hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día <sup>2</sup>	Insulina glargina una vez al día a la misma hora cada día	Insulina humana LysB29(Nε -hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) una vez al día con la comida nocturna
Dosis diaria de insulina basal (U/kg)	0,42	0,42	0,38
Dosis diaria de insulina prandial (U/kg)	0,35	0,42	0,33

1) Media aritmética. 2) La inyección flexible es como se definió en la Tabla 5.

Conclusiones

Se descubrió sorprendentemente que con el uso de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30), que tiene una duración prolongada de la acción y un perfil de actividad sin picos y estable, los sujetos con diabetes

tipo 1 se regularon lo suficiente con una dosificación una vez al día administrada con intervalos de inyección variables en combinación con insulina en bolo.

En sujetos con diabetes tipo 1, el tratamiento de 26 semanas con insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) proporcionada de manera flexible (con intervalos de inyección variables) en combinación con insulina humana AspB28, dio como resultado un control de la glucemia no inferior y una incidencia de episodios hipoglucémicos comparable a lo observado para la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) proporcionada con la comida nocturna y al control de la glucemia y la incidencia de episodios hipoglucémicos observados para la insulina glargina proporcionada una vez al día a la misma hora cada día (de acuerdo con la etiqueta aprobada).

#### Ejemplo clínico 4

Investigación del efecto clínico del producto de combinación coformulado de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28 administrado con relación a las comidas con la opción de cambiar entre comidas de un día a otro durante el período de tratamiento.

#### Elementos metodológicos y resultados fundamentales

El ensayo se diseñó para evaluar la viabilidad, eficacia, seguridad y tolerabilidad del producto de combinación de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28 (600 nmol/ml) para el tratamiento de sujetos con diabetes tipo 1 proporcionado una vez al día con relación a una comida con la opción de cambiar de un día a otro la hora de inyección del producto de combinación de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28 a una comida diferente. El tratamiento consistió en la administración del producto de combinación de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28 en una comida e insulina humana Asp28 proporcionada con relación a las comidas restantes que requieren insulina en sujetos con diabetes tipo 1.

#### Objetivo principal

Evaluar el control de la glucosa con respecto a la HbA<sub>1c</sub> después de 26 semanas de tratamiento con un producto de combinación de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28 con relación a una comida seleccionada (con la opción de variar la comida de un día a otro) o insulina detemir una vez al día (con la opción de optimizar a dos veces al día en sujetos no controlados de manera óptima), ambos brazos de tratamiento en combinación con la insulina humana Asp28 con las comidas restantes que requieren insulina en sujetos con diabetes tipo 1.

#### Materiales y Métodos

El ensayo se realizó en sujetos con diabetes tipo 1 diagnosticada al menos un año antes de ingresar al ensayo con una HbA<sub>1c</sub> entre 7 y 10 %. En el momento de la aleatorización, los sujetos se asignaron a cualquiera de dos productos de insulina basal:

1. la combinación de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28 una vez al día con cualquier comida (hora de inyección variable de un día a otro) o
2. insulina detemir una vez al día (o dos veces al día) a la misma hora cada día (de acuerdo con la etiqueta). Ambos grupos de tratamiento recibieron insulina humana AspB28 como insulina a la hora de la comida en las comidas restantes.

Un total de 548 sujetos con diabetes tipo 1, de 41 años de edad, duración media de la diabetes de 17 años, BMI promedio de 26,4 kg/m<sup>2</sup>, FPG media de 10,5 mmol/L, y HbA<sub>1c</sub> media de 8,3 % se aleatorizaron (2:1 en favor de la combinación de insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28 durante un período de tratamiento de 26 semanas.

#### Resultados de eficacia

##### HbA<sub>1c</sub>

El intervalo de confianza del contraste entre tratamientos cuando se compara insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28 con el otro grupo de tratamiento estuvo dentro del límite de no inferioridad de 0,4. Por lo tanto, los dos grupos fueron similares con respecto a los cambios medios en la HbA<sub>1c</sub> respecto al valor inicial al final del tratamiento (Tabla 17 de análisis estadístico).

Tabla 17

Diferencia entre tratamientos entre los grupos de tratamiento en HbA1c (%) al final del ensayo	
	Insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28
	Insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28
Diferencia entre tratamientos vs. insulina detemir <sup>1</sup> (HbA1c en % puntos [intervalos de confianza de 95 %])	-0,05 [-0,18; 0,08]
<sup>1</sup> ) Resultados de ANOVA con tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado, sexo, región, edad y HbA1c inicial como variables explicativas	

Hipoglucemia

Los episodios hipoglucémicos se registraron durante el ensayo de acuerdo con las definiciones de la Asociación americana de la diabetes, cf. Tabla 18.

Tabla 18

Perspectiva general de la hipoglucemia. La aleatorización fue 2:1 insulina humana (LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28 : insulina detemir)						
	Insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28			Insulina Detemir		
Episodios hipoglucémicos <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	(%) <sup>3</sup>	E <sup>4</sup>	N	(%)	E
Severos	35	9,7	56	22	12,2	35
Sintomáticos documentados	319	88,1	9670	156	86,7	5126
Asintomáticos	270	74,6	4032	137	76,1	1804
Sintomáticos probables	71	19,6	234	40	22,2	149
Relativos	42	11,6	108	17	9,4	33
No clasificables	105	29,0	395	50	27,8	241
<sup>1</sup> ) Episodios hipoglucémicos definidos como: severo = episodio hipoglucémico donde otra persona tenía que administrar al sujeto el alimento, el glucagón o la glucosa i.v. debido a la disfunción severa del sistema nervioso central asociada con el episodio hipoglucémico, Sintomático documentado= episodio no severo con síntomas subjetivos y valor de glucosa plasmática por debajo de 3,9 mmol/L, Asintomático= episodio no severo y valor de glucosa plasmática por debajo de 3,9 mmol/L y sin síntomas, Sintomático probable= episodio no severo sin valor de glucosa plasmática pero con síntomas subjetivos, Relativo= episodio no severo con síntomas subjetivos y un valor de glucosa plasmática mayor que o igual a 3,9 mmol/L. <sup>2</sup> ) N: número de sujetos. <sup>3</sup> ) %: porcentaje de sujetos. <sup>4</sup> ) E: número de eventos.						

Dosis de insulina

Tabla 19

Dosis media diaria de insulina <sup>1</sup> después de 26 semanas de tratamiento		
	Insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-γ-Glu) des(B30) e insulina humana AspB28 + insulina humana AspB28	Insulina Detemir + insulina humana AspB28
Dosis diaria (U/kg)	0,86	1,00
<sup>1</sup> ) Media aritmética.		

## Conclusiones

Se descubrió sorprendentemente que el componente basal del producto de combinación, la insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30), que tiene una duración prolongada de la acción y un perfil de actividad sin picos y estable, permitió que los sujetos se regularan lo suficiente con la dosificación una vez al día incluso cuando variaban los intervalos de inyección como resultado de cambiar la comida en la que se administró la inyección del producto de combinación.

[0254] En sujetos con diabetes tipo 1, el tratamiento con insulina de 26 semanas con insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) combinada con insulina humana AspB28 proporcionada una vez al día con relación a una comida seleccionada (con la opción de variar la hora de inyección a una comida diferente de un día a otro) dio como resultado un control de la glucemia comparable (no inferior) al de la insulina detemir proporcionada dos veces al día de acuerdo con la etiqueta, ambos tratamientos se combinaron con insulina humana AspB28 para las comidas restantes. La combinación de insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) dio como resultado un menor uso de insulina y una menor incidencia de episodios hipoglucémicos en comparación con lo observado para la insulina detemir.

## Estudios clínicos - ejemplo clínico 5

Investigación del efecto clínico de IDegAsp (insulina humana LysB29(N $\epsilon$ -hexadecandioil- $\gamma$ -Glu) des(B30) e insulina humana AspB28) administrada en la comida más grande.

## Introducción

En este estudio clínico detallado, IDegAsp (insulina degludec/insulina aspártica) se administra a pacientes con diabetes tipo 2 en la comida más grande del día. Los resultados presentados en la presente descripción son de un ensayo Fase 3, controlado y aleatorizado. En la presente descripción el análisis se basa en mediciones reales. Sin embargo, en algunos lugares se analizan las tasas estimadas (por ejemplo, las obtenidas a partir de un modelo estadístico adecuado.

## Definición de los grupos de análisis

Los siguientes grupos de análisis se definieron de acuerdo con la guía ICH-E9:

- Grupo completo de análisis (FAS): incluyó a todos los sujetos aleatorizados. En casos excepcionales, podían eliminarse sujetos del FAS. En tales casos, la eliminación debía justificarse y documentarse. La evaluación estadística del FAS siguió el principio de intención de tratar y los sujetos contribuyeron a la evaluación "como se aleatorizaron".

- Grupo de análisis por protocolo (PP): incluyó a los sujetos sin ninguna violación importante del protocolo que pueda haber afectado el criterio de valoración principal. Por otra parte, los sujetos deben haberse expuesto al producto en investigación o a su comparador durante más de 12 semanas y deben tener una evaluación válida necesaria para obtener el criterio de valoración principal. Los sujetos en el grupo PP contribuyeron a la evaluación "como se trataron".

- Grupo de análisis de seguridad: incluyó a todos los sujetos que recibieron al menos una dosis del producto en investigación o su comparador. Los sujetos en el conjunto de seguridad contribuyeron a la evaluación "como se trataron".

Los sujetos aleatorizados que se perdieron para el seguimiento y donde no se disponía de información sobre la exposición al producto en investigación o su comparador después de la aleatorización se trataron como no expuestos. Todos los OAD se consideraron productos que no están en investigación.

Antes de que los datos se liberaran para el análisis estadístico, se realizó una revisión a ciegas de todos los datos para identificar las desviaciones del protocolo que podrían haber afectado potencialmente los resultados. Esta revisión se realizó sin revelar el producto del ensayo que se asignó a los sujetos. El enmascaramiento de los productos del ensayo se mantuvo para todos los participantes en la definición de los grupos de análisis hasta que los datos se liberaron para el análisis estadístico. Además, el estadístico identificó los valores extremos y atípicos durante la programación y revisión de los datos de acuerdo con ICH-E930, con el uso de una aleatorización falsa.

Los sujetos que se expusieron a los productos del ensayo <12 semanas y que no tenían una evaluación válida de la HbA<sub>1c</sub> después de la aleatorización se excluyeron del análisis PP, al igual que los sujetos que violaron los criterios de selección en el ensayo. La decisión de excluir a algún sujeto u observación del análisis estadístico fue la responsabilidad conjunta de los miembros a ciegas del grupo de estudio. Los sujetos u observaciones a excluir y el

motivo de su exclusión debían documentarse y firmarse por todas las partes, antes de la liberación de la base de datos. La documentación se almacenó junto con el resto de la documentación del ensayo.

5 Análisis estadístico

Criterio de valoración principal

El criterio de valoración principal fue el cambio en HbA<sub>1c</sub> (%) respecto al valor inicial después de 26 semanas de tratamiento.

10 Análisis estadístico

El cambio en HbA<sub>1c</sub> respecto al valor inicial después de 26 semanas de tratamiento se analizó con el uso de un método de análisis de varianza (ANOVA) con tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado y sexo como factores fijos, y edad y HbA<sub>1c</sub> inicial como covariables. La terapia antidiabética en el momento del cribado fue un factor con los dos niveles siguientes: 1. SU y/o glinidas y 2: Otros.

El modelo se ajustó a todos los datos de manera simultánea (todos los grupos de tratamiento) y a partir de este modelo se calcularon las diferencias relevantes entre tratamientos.

La no inferioridad se consideró confirmada si el límite superior del IC de 95 % bilateral era menor que o igual a 0,4 % o equivalente si el valor p para la prueba unilateral de H<sub>0</sub>: D > 0,4 % contra H<sub>A</sub>: D ≤ 0,4 %, era menor que o igual a 2,5 %, donde D es la diferencia media entre tratamientos (producto en investigación menos el comparador).

Si se confirmó la no inferioridad, se debe investigar la superioridad del producto en investigación sobre el comparador. La superioridad se consideró confirmada si el límite superior del IC de 95 % bilateral, que se calculó con el uso del FAS, estaba por debajo de 0 %. En este caso el análisis PP se consideró como respaldo.

30 Análisis de sensibilidad

Los siguientes análisis de sensibilidad se realizaron solamente con el uso del FAS.

Todas las mediciones de HbA<sub>1c</sub> observadas disponibles después de la aleatorización en los tiempos de medición programados también se analizaron en un modelo lineal mixto con el uso de una matriz de covarianza residual no estructurada (de ser posible). Este enfoque depende de la suposición de que los datos se pierden aleatoriamente de acuerdo con la taxonomía definida por Rubin (1976 Biometrika vol 63(3) pp 581-592). Los resultados se compararon con los resultados del método LOCF para tratar los datos perdidos. Cualquier diferencia marcada relacionada con las diferencias entre tratamientos entre el enfoque de pérdida de datos aleatoria y el enfoque de LOCF se debía comentar en el CTR.

El cambio en la HbA<sub>1c</sub> respecto al valor inicial se analizó además con el uso de un modelo solamente con tratamiento como factor fijo y HbA<sub>1c</sub> inicial como covariable para evaluar la sensibilidad de los resultados para la inclusión/exclusión de factores fijos y covariables.

45 Criterios de valoración secundarios de confirmación

Dado que se confirmó la no inferioridad para el criterio de valoración principal, una serie de criterios de valoración secundarios de confirmación se probaron para confirmar la superioridad del producto en investigación sobre el comparador.

Los criterios de valoración secundarios de confirmación se proporcionan a continuación junto con la indicación de la prueba para la superioridad. El orden de los criterios de valoración definió la secuencia de pruebas.

55 1. Incremento de PG prandial en la cena después de 26 semanas de tratamiento (90 minutos después del inicio de la cena como se mide por SMPG)

- La superioridad se consideró confirmada si el IC de 95 % para la diferencia entre tratamientos (producto en investigación menos el comparador) estaba completamente por debajo de cero.

60 2. Respondedor sin episodios hipoglucémicos (HbA<sub>1c</sub> < 7,0 % al final del ensayo y ningún episodio severo o menor durante las últimas 12 semanas de tratamiento que incluye solamente a los sujetos expuestos durante al menos 12 semanas)

65 - La superioridad se consideró confirmada si el IC de 95 % para la relación de probabilidades (producto en investigación/comparador) estaba completamente por encima de uno.



3. Número de episodios hipoglucémicos severos o menores nocturnos (00:01-05:59 a.m.) emergentes del tratamiento

5 - La superioridad se consideró confirmada si el IC de 95 % para el riesgo relativo (producto en investigación/comparador) estaba completamente por debajo de uno.

4. Cambio en el peso corporal respecto al valor inicial después de 26 semanas de tratamiento

10 - La superioridad se consideró confirmada si el IC de 95 % para la diferencia entre tratamientos (producto en investigación menos el comparador) estaba completamente por debajo de cero.

Incremento de la glucosa plasmática prandial en la cena

15 El incremento de PG prandial en la cena del día (en la que se inyectó la insulina) se obtuvo del perfil de SMPG de 9 puntos como la diferencia entre los valores de PG disponibles antes de la cena y 90 minutos después de la cena.

20 El criterio de valoración después de 26 semanas de tratamiento se analizó con el uso de un método ANOVA con tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado y sexo como factores fijos, y edad e incremento de PG al inicio como covariables.

Respondedor sin episodios hipoglucémicos

25 El respondedor sin episodios hipoglucémicos es un criterio de valoración dicotómico (respondedor/no respondedor) que se define en base a si un sujeto ha cumplido el objetivo de HbA<sub>1c</sub> de la ADA al final del ensayo (HbA<sub>1c</sub> < 7 %) sin episodios hipoglucémicos severos o menores emergentes del tratamiento durante las últimas 12 semanas de tratamiento. Los episodios hipoglucémicos severos se definen de acuerdo con la clasificación de la ADA mientras que los episodios hipoglucémicos menores (PG < 3,1 mmol/L) constituyen un grupo adicional. Un episodio hipoglucémico se define como emergente del tratamiento si la aparición del episodio es en o después del primer día de exposición al tratamiento aleatorizado y no más tarde de 7 días después del último día de tratamiento aleatorizado. El criterio de valoración se definió solamente para sujetos que se habían expuesto al producto en investigación o su comparador durante al menos 12 semanas.

35 El análisis de los respondedores se basó en un modelo de regresión logística con el uso de tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado y sexo como factores fijos, y edad y HbA<sub>1c</sub> inicial como covariables.

Número de episodios hipoglucémicos nocturnos severos o menores emergentes del tratamiento

40 Este criterio de valoración de recuento se define como la suma de los episodios hipoglucémicos nocturnos severos y menores emergentes del tratamiento. Cualquier episodio que tuvo una hora de aparición entre 00:01 y 05:59 a.m. (ambas incluidas) se consideró nocturno.

45 La cantidad de episodios hipoglucémicos nocturnos se analizó con el uso de un modelo de regresión binomial negativa con una función de vínculo logarítmico y el logaritmo del período de tiempo en el que un episodio hipoglucémico se consideró emergente del tratamiento como variable de exposición. El modelo incluyó tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado y sexo como factores fijos y edad como covariable.

Cambio en el peso corporal respecto al valor inicial

50 El cambio en el peso corporal respecto al valor inicial después de 26 semanas de tratamiento se analizó con el uso de un método ANOVA con tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado y sexo como factores fijos, y edad y peso corporal inicial como covariables.

Criterios de valoración secundarios de respaldo

55 Criterios de valoración de respuesta de HbA<sub>1c</sub>

60 Los criterios de valoración dicotómicos (respondedores/no respondedores) se definieron en base a si un sujeto cumplió un objetivo específico - por ejemplo, al menos el objetivo de HbA<sub>1c</sub> de la ADA (HbA<sub>1c</sub> < 7 %). Otro ejemplo de un objetivo es el objetivo de HbA<sub>1c</sub> de la Federación Internacional de Diabetes (HbA<sub>1c</sub> ≤ 6,5 %).

Los criterios de valoración dicotómicos adicionales se definieron en base a si se lograron los objetivos de tratamiento al final del ensayo sin episodios hipoglucémicos en las últimas 12 semanas de tratamiento considerando los episodios severos solamente, y los episodios severos y menores en conjunto. Los criterios de valoración se definieron solamente para los sujetos que se habían expuesto durante al menos 12 semanas.

Los criterios de valoración de respuesta se analizaron por separado en base a un modelo de regresión logística con el uso de tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado y sexo como factores fijos, y edad y HbA<sub>1c</sub> inicial como covariables.

5 Glucosa plasmática en ayunas

El cambio en FPG respecto al valor inicial se analizó con el uso de un método ANOVA con tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado y sexo como factores fijos, y edad y FPG inicial como covariables.

10 Glucosa plasmática automedida

La glucosa plasmática automedida se midió en términos de los perfiles de SMPG de 9 puntos y los perfiles de SMPG de 1 punto usados para los ajustes de la dosis de insulina.

15 Perfil de 9 puntos (SMPG)

El perfil de 9 puntos (SMPG) incluyó mediciones antes y 90 minutos después del inicio del desayuno, el almuerzo y la comida nocturna principal, mediciones antes de la hora de acostarse y a las 4 a.m., y antes del desayuno al día siguiente.

20 Los criterios de valoración de los perfiles de 9 puntos (SMPG) fueron

- perfil de 9 puntos (SMPG)
- Media del perfil de 9 puntos (SMPG)
- 25 • Fluctuación en el perfil de 9 puntos (SMPG)
- Incrementos de PG prandial
- 30 • Cambios entre las mediciones nocturnas de SMPG

35

$$\frac{1}{T} \int_0^T |PG(t) - \overline{PG}| dt$$

40

La media del perfil de 9 puntos (SMPG) se define como el área debajo del perfil dividida por el tiempo de medición y se calcula con el uso del método trapezoidal. La fluctuación en el perfil de 9 puntos (SMPG) se define como donde  $T$ ,  $PG(t)$  y  $\overline{PG}$  denotan la longitud del perfil, el valor de PG en el tiempo  $t$  y la media del perfil, respectivamente.

45

El incremento de PG prandial para cada comida se obtuvo a partir del perfil de 9 puntos (SMPG) como la diferencia entre los valores de PG disponibles 90 minutos después de la comida y antes de la comida. La media del incremento de PG prandial en todas las comidas se obtuvo como la media de todos los incrementos en las comidas disponibles.

50

El cambio entre PG nocturnas se evaluó considerando las diferencias entre los valores de PG disponibles antes de la hora de acostarse, a las 4 a.m. y el valor antes del desayuno al día siguiente: (valor de PG a las 4 a.m. menos el valor de PG antes de la hora de acostarse), (valor de PG antes del desayuno menos valor de PG antes de acostarse) y (valor de PG antes del desayuno menos valor de PG a las 4 a.m.).

55

Un modelo de efecto mixto se ajustó a los datos del perfil de 9 puntos (SMPG). El modelo incluyó tratamiento, tiempo, interacción entre el tratamiento y el tiempo, terapia antidiabética en el momento del cribado y sexo como factores fijos, edad como covariable y sujeto como efecto aleatorio. A partir del modelo, se calcularon y exploraron el perfil medio por tratamiento y las diferencias relevantes entre tratamientos.

60

La media y la fluctuación en el perfil de 9 puntos (SMPG), el incremento de PG prandial y los criterios de valoración de PG nocturna se analizaron por separado con el uso de un método ANOVA con tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado y sexo como factores fijos, y la edad y el valor inicial relevante como covariables. La fluctuación en el perfil de 9 puntos (SMPG) se transformó de manera logarítmica antes del análisis.

Criterios de valoración de seguridad

65

Se evaluaron los siguientes criterios de valoración de seguridad:

- EA
  - Análisis de laboratorio
- 5 • evaluaciones clínicas

Episodios hipoglucémicos

10 Los sujetos registraron los episodios hipoglucémicos en sus diarios del ensayo a lo largo del ensayo. La información recopilada incluyó la PG antes de tratar el episodio y si el sujeto fue capaz de tratarse a sí mismo/a.

15 También se recopiló la información sobre la última comida y la dosis. Esta información se usó para clasificar un episodio de acuerdo con la definición de la ADA (severo, sintomático documentado, asintomático, sintomático probable y relativo).

Un episodio hipoglucémico se definió como emergente del tratamiento si la aparición del episodio fue en o después del primer día de exposición al tratamiento aleatorizado y no más tarde que 7 días después del último día de tratamiento aleatorizado.

20 Los resúmenes de los episodios hipoglucémicos emergentes del tratamiento se realizaron mediante la presentación de lo siguiente:

- el número de sujetos con al menos un episodio
- 25 • el porcentaje de sujetos con al menos un episodio
- la cantidad de episodios y la tasa de episodios por 100 PYE
- resúmenes separados por severidad:
- 30 - todos los episodios
- episodios nocturnos que usan tanto la definición de la ADA como la categoría menor adicional.

35 El período nocturno se consideró como el período entre 00:01 y 05:59 a.m. (ambas incluidas). Un episodio hipoglucémico que tuvo una hora de aparición durante este período se consideró nocturno.

40 El número de episodios hipoglucémicos se analizó con el uso de un modelo de regresión binomial negativa con una función de vínculo logarítmico y el logaritmo del período de tiempo en el que un episodio hipoglucémico se consideró emergente del tratamiento como variable de exposición. El modelo incluyó tratamiento, terapia antidiabética en el momento del cribado y sexo como factores fijos, y edad como covariable. En la medida en que los datos lo permitieron, se realizaron análisis separados para episodios severos y episodios severos o menores, considerando todos los episodios y los episodios nocturnos por separado.

45 Información adicional del ensayo

La siguiente información tabulada presenta información adicional sobre el ensayo específico realizado.

Tabla 20

Régimen de tratamiento		
IDegAsp	IGlar	
Frecuencia	OD	OD
55 Hora de inyección	Comida más grande <sup>3</sup>	De acuerdo con la etiqueta <sup>1</sup>
Dosis inicial	10 U	10 U
Dispositivo	Flexpen®	Solostar®
60 Terapia antidiabética adicional	≤ 2 OAD <sup>2</sup>	≤ 2 OAD <sup>2</sup>

1) Antes del desayuno o antes de la hora de acostarse (una vez al día a la misma hora cada día)

2) SU/glinidas y los inhibidores de DPP-IV se interrumpieron en el momento de la aleatorización

3) Los sujetos eligen la hora de inyección en el momento de la aleatorización

Tabla 21

Principales criterios de reclutamiento

5	Diagnóstico	Diabetes tipo 2	Durante $\geq$ 6 meses
	Uso diario de insulina	Virgen para la insulina	
10	Tratamiento previo	1 o más OAD	Durante $\geq$ 3 meses
	HbA <sub>1c</sub>	7 - 10 %	
	Índice de masa corporal	$\leq$ 35 kg/m <sup>2</sup>	
15	Edad	$\geq$ 20 años	

Tabla 22

Información inicial  
Características de los sujetos

	IDegAsp	IGlar	Total	
20	# FAS	147	149	296
25	Sexo (% de hombres)	61	66	64
	Edad* (años)	60	61	61
	Duración de la diabetes* (años)	11	12	12
30	Peso corporal* (kg)	66	66	66
	BMI* (kg/m <sup>2</sup> )	25,2	25,0	25,1
	HbA <sub>1c</sub> * (%)	8,3	8,5	8,4
35	FPG en Lab. Central* (mmol/L)	9,0	9,1	9,0
	*) Media aritmética			

Tabla 23

OAD en el momento del cribado  
Número de sujetos

	IDegAsp	IGlar	Total	
40	Metformina <sup>1</sup>	8	5	13
45	SU/Glinidas <sup>1</sup>	21	16	37
	Metformina + SU/Glinidas <sup>2</sup>	30	35	65
50	Otros	88	93	181
	<sup>1</sup> Monoterapia <sup>2</sup> Dos OAD Los números se obtuvieron del listado de medicamentos concomitantes			

Tabla 24

Terapia antidiabética en el momento del cribado: Estratificación por SU/Glinidas u otros  
Número de sujetos

	IDegAsp	IGlar	Total	
55	SU y/o glinidas	125	125	250
60	Otros	22	24	46

la estratificación se usa para la distribución uniforme en los brazos de tratamiento  
Los números se obtuvieron del listado de medicamentos concomitantes

65			
----	--	--	--

## Ejecución del ensayo

Tabla 25

Disposición de los sujetos  
Número de sujetos

	IDegAsp	IGlar	Total
Aleatorizados	147	149	296 (100 %)
Expuestos	147	149	296 (100 %)
Completado*	137	137	274 (92,6 %)

\*) Completado: última visita de tratamiento programada realizada

## Número de sujetos en grupos de análisis

Tabla 26

Número de sujetos

	IDegAsp	IGlar	Total
FAS	147	149	296
Grupo de análisis PP	141	140	281
Grupo de seguridad	147	149	296

FAS: Grupo completo de análisis  
PP: Por protocolo

Tabla 27

Exposición a la insulina del ensayo

	IDegAsp	IGlar	Total
Número de sujetos expuestos	147	149	296
Años de exposición de los pacientes	70,0	70,2	140,2

## 45 Resultados para el Ejemplo Clínico 5

Los resultados para el Ejemplo 5 se presentan en las Figuras adjuntas. Los resultados se analizan más adelante en la presente descripción.

50 HbA<sub>1c</sub> - Criterio de valoración principal

El objetivo principal de este ensayo fue confirmar la eficacia de IDegAsp en el control de la glucemia con respecto al cambio en HbA<sub>1c</sub> respecto al valor inicial después de 26 semanas de tratamiento. En la población del estudio IDegAsp mejoró el control de la glucemia en mayor medida en comparación con IGlar. La HbA<sub>1c</sub> media disminuyó a lo largo del ensayo en ambos grupos de tratamiento; ver los resultados presentados en las Figuras 1 y 2, en particular los resultados presentados en la Figura 1.

Después de 26 semanas de tratamiento, la HbA<sub>1c</sub> media observada fue 7,0 % con IDegAsp y 7,3 % con IGlar. El cambio medio observado al final del ensayo respecto al valor inicial fue -1,35 %-puntos y -1,22 %-puntos en el grupo con IDegAsp e IGlar, respectivamente.

IDegAsp mejoró eficazmente el control de la glucemia (no inferior a IGlar) y las pruebas posteriores confirmaron la superioridad sobre IGlar en la reducción de HbA<sub>1c</sub>. Tanto la no inferioridad como la superioridad se confirmaron dado que el límite superior del IC de 95 % para la diferencia entre tratamientos estimada fue < 0.

ES 2 724 731 T3

La reducción media estimada en HbA1c fue -1,61 %-puntos con IDegAsp y - 1,33 %-puntos con IGlar, con una diferencia media estimada (IDegAsp-IGlar) de - 0,28 %-puntos, [- 0,46; - 0,10] IC de 95 % después de 26 semanas de tratamiento; ver la Tabla 28.

5 Tabla 28

HbA1c (%) después de 26 semanas de tratamiento - Análisis estadístico primario - Grupo completo de análisis

	FAS	N	Estimado	SE	IC de 95 %
10 HbA1c (%)					
LSMedias					
15 IDegAsp OD	147	147	6,81	0,08	
IGlar OD	149	149	7,09	0,08	
20 Cambio respecto al valor inicial					
LSMedias					
25 IDegAsp OD	147	147	-1,61	0,08	
IGlar OD	149	149	-1,33	0,08	
30 Contraste entre tratamientos					
IDegAsp OD - IGlar OD			-0,28		[-0,46; -0,10]

35 N= Número de sujetos que contribuyen al análisis, IC= Intervalo de confianza,  
SE= Error estándar de la media  
La respuesta y el cambio respecto al valor inicial en la respuesta después de 26 semanas de tratamiento se analizan con el uso de un método ANOVA con tratamiento, tratamiento antidiabético en el momento del cribado y sexo como efectos fijos, y edad y respuesta inicial como covariables.  
40 Los datos perdidos se imputan con el uso de la extrapolación de la última observación.

El análisis primario de la eficacia se basó en el FAS y el grupo de análisis PP, donde el análisis PP se consideró como evidencia de respaldo. El resultado del análisis con el uso del grupo de análisis PP respaldó el resultado del análisis primario; ver la Tabla 29.

Los resultados del análisis primario también se respaldaron con dos análisis de sensibilidad adicionales, uno basado en un modelo simple, que incluye solamente HbA1c inicial como covariable, y uno basado en un modelo de mediciones repetidas.

50 Tabla 29

HbA1c (%) después de 26 semanas de tratamiento - Análisis estadístico de sensibilidad - Grupo de análisis PP

	PP	N	Estimado	SE	IC de 95 %
55 HbA1c (%)					
LSMedias					
IDegAsp OD	141	141	6,70	0,07	
IGlar OD	140	140	6,95	0,07	
60 Cambio respecto al valor inicial					
LSMedias					
IDegAsp OD	141	141	-1,71	0,07	
IGlar OD	140	140	-1,46	0,07	
65 Contraste entre tratamientos					

IDegAsp OD - IGlar OD -0,25 [-0,41; -0,10]

N= Número de sujetos que contribuyen al análisis, IC= Intervalo de confianza,  
SE= Error estándar de la media

5 La respuesta y el cambio respecto al valor inicial en la respuesta después de 26 semanas de tratamiento se analizan con el uso de un método ANOVA con tratamiento, tratamiento antidiabético en el momento del cribado y sexo como efectos fijos, y edad y respuesta inicial como covariables.  
Los datos perdidos se imputan con el uso de la extrapolación de la última observación.

10 Respondedores para HbA<sub>1c</sub>

Al final del ensayo, la proporción observada de sujetos que lograron el objetivo de la ADA de HbA<sub>1c</sub> < 7,0 % fue 58,5 % con IDegAsp y 40,3 % con IGlar (ver la Tabla 30). La proporción observada de respondedores que lograron el objetivo de HbA<sub>1c</sub> de <7,0 % fue numéricamente mayor en el grupo con IDegAsp en comparación con el grupo con IGlar en todos los puntos de tiempo (Semanas 12, 16 y 26).

15 La proporción observada de sujetos que lograron el objetivo más estricto de la IDF de HbA<sub>1c</sub> ≤ 6,5 % fue 33,3 % de los sujetos tratados con IDegAsp y 19,5 % de los sujetos tratados con IGlar; ver la Tabla 30.

20 Tabla 30

Respondedor para HbA<sub>1c</sub> al final del ensayo - Resumen - Grupo completo de análisis

	IDegAsp OD		IGlar OD		Total	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Número de sujetos HbA <sub>1c</sub> <7,0 % (ADA)	147		149		296	
Visita 28 (Semana 26) (LOCF)						
N	147	(100,0)	149	(100,0)	296	(100,0)
Sí	86	(58,5)	60	(40,3)	146	(49,3)
No	61	(41,5)	89	(59,7)	150	(50,7)
HbA <sub>1c</sub> ≤6,5 % (IDF)						
Visita 28 (Semana 26) (LOCF)						
N	147	(100,0)	149	(100,0)	296	(100,0)
Sí	49	(33,3)	29	(19,5)	78	(26,4)
No	98	(66,7)	120	(80,5)	218	(73,6)
N = Número de sujetos						

50 La probabilidad estimada de lograr el objetivo de HbA<sub>1c</sub> < 7 % fue aproximadamente dos veces mayor con IDegAsp que con IGlar (la relación de probabilidades estimadas de tratamientos (IDegAsp/IGlar) fue 2,10 [1,26; 3,52] IC de 95 %), ver la Tabla 31. Dado que el IC de 95 % para la relación de probabilidades (IDegAsp/IGlar) no incluía el valor 1, esta diferencia fue estadísticamente significativa; ver la Tabla 31.

55 Tabla 31

Respondedor para HbA<sub>1c</sub> en final de ensayo - Análisis estadístico - Grupo completo de análisis

	FAS	N	Estimado	IC de 95 %
HbA <sub>1c</sub> <7,0 %				
LSMedias, Probabilidades				
IDegAsp OD	147	147	2,38	
IGlar OD	149	149	1,13	
Relación de probabilidades de los				
tratamientos				
IDegAsp OD / IGlar OD			2,10	[1,26 ; 3,52]

HbA1c ≤ 6,5 %				
LSMedias, Probabilidades				
5	IDegAsp OD	147	147	0,84
	IGlar OD	149	149	0,38
Relación de probabilidades de los tratamientos				
10	IDegAsp OD / IGlar OD		2,20	[1,20 ; 4,02]
N= Número de sujetos que contribuyen al análisis, IC= Intervalo de confianza				
El criterio de valoración binario se analiza en un modelo de regresión logística con el uso de un vínculo logit.				
El modelo incluye tratamiento, tratamiento antidiabético en el momento del cribado y sexo, como efectos fijos, y edad y HbA <sub>1c</sub> inicial como covariables.				
15	Los datos perdidos se imputan con el uso de la extrapolación de la última observación.			
Final del ensayo: la última visita a un sujeto al final del ensayo con exclusión de la visita de seguimiento.				

En consonancia con esto, la probabilidad estimada de lograr el objetivo de HbA<sub>1c</sub> ≤ 6,5 % al final del ensayo también fue aproximadamente dos veces mayor con IDegAsp que con IGlar, dado que el límite inferior del IC de 95 % para la relación de probabilidades estimadas (relación de probabilidades IDegAsp/IGlar: 2,20 [1,20; 4,02]<sub>IC de 95%</sub>) fue >1, ver la Tabla 31.

Sujetos que logran los objetivos de HbA<sub>1c</sub> sin hipoglucemia

En general, una proporción de sujetos tratados con IDegAsp (43,3 %) numéricamente mayor que con IGlar (25,0 %) logró el objetivo de HbA<sub>1c</sub> < 7 % sin episodios hipoglucémicos confirmados durante las últimas 12 semanas de tratamiento; ver la Tabla 32.

Tabla 32

Respondedor para HbA <sub>1c</sub> al final del ensayo sin hipoglucemia - Resumen - Grupo completo de análisis						
	IDegAsp OD		IGlar OD		Total	
35	N	(%)	N	(%)	N	(%)
	Número de sujetos	147	149		296	
HbA <sub>1c</sub> <7,0 % sin hipoglucemia confirmada						
Visita 28 (Semana 26) (LOCF)						
45	N	(100,0)	140	(100,0)	281	(100,0)
	Sí	(43,3)	35	(25,0)	96	(34,2)
	No	(56,7)	105	(75,0)	185	(65,8)
Visita 28 (Semana 26) (LOCF)						
50	N	(100,0)	140	(100,0)	281	(100,0)
	Sí	(25,5)	22	(15,7)	58	(20,6)
	No	(74,5)	118	(84,3)	223	(79,4)
55	N = Número de sujetos					
Respondedor para HbA <sub>1c</sub> sin hipoglucemia: sujeto que cumple el objetivo de HbA <sub>1c</sub> al final del ensayo sin hipoglucemia emergente del tratamiento durante las últimas 12 semanas de tratamiento. El criterio de valoración se define solamente para sujetos expuestos durante al menos 12 semanas de tratamiento. Final del ensayo: la última visita a un sujeto al final del ensayo con exclusión de la visita de seguimiento. Hipoglucemia confirmada: sujeto incapaz de tratarse a sí mismo/misma y/o que tiene una PG < 3,1 mmol/L (56 mg/dl) registrada						
60						

La proporción de sujetos que logran HbA<sub>1c</sub> < 7 % al final del ensayo sin episodios de hipoglucemia confirmada se especificó como un criterio de valoración secundario de confirmación.

El análisis estadístico confirmó que IDegAsp fue superior a IGlar en términos de una mayor proporción de sujetos que logran HbA<sub>1c</sub> < 7 % sin episodios hipoglucémicos confirmados, dado que el límite inferior del IC de 95 % para la



relación de probabilidades estimadas (IDegAsp/IGlar) fue >1. La probabilidad estimada de lograr este objetivo fue aproximadamente dos veces mayor con IDegAsp en comparación con IGlar (relación de probabilidades 2,21 [1,25; 3,92]<sub>IC de 95%</sub>); ver la Tabla 33.

5

Tabla 33

HbA<sub>1c</sub> < 7,0 % al final del ensayo sin hipoglucemia confirmada - Análisis estadístico de confirmación – Grupo completo de análisis

	FAS	N	Estimado	IC de 95 %
10	HbA <sub>1c</sub> <7,0 % sin hipoglucemia confirmada <7,0 % LSMedias, Probabilidades			
	IDegAsp OD	147	141	1,09
15	IGlar OD	149	140	0,49
	Relación de probabilidades de los tratamientos			
20	HbA <sub>1c</sub> <7,0 % sin hipoglucemia confirmada <7,0 % IDegAsp OD / IGlar		2,21	[1,25 ; 3,92]

25 N = Número de sujetos que contribuyen al análisis, IC = Intervalo de confianza. El criterio de valoración se analiza en un modelo de regresión logística con el uso de un vínculo logit, que incluye tratamiento, tratamiento antidiabético en el momento del cribado y sexo como efectos fijos, y edad y HbA<sub>1c</sub> inicial como covariables. Los datos perdidos se imputan con el uso de LOCF. HbA<sub>1c</sub> <7,0 % sin hipoglucemia: Un sujeto expuesto durante al menos 12 semanas, que cumple el objetivo de HbA<sub>1c</sub> sin hipoglucemia durante las últimas 12 semanas de tratamiento o dentro de 7 días a partir del último tratamiento aleatorizado. Final del ensayo: la última visita a un sujeto al final del ensayo con exclusión de la visita de seguimiento. Hipoglucemia confirmada: sujeto incapaz de tratarse a sí mismo/misma y/o que tiene una PG < 3,1 mmol/L (56 mg/dl) registrada.

35 La probabilidad estimada (IDegAsp/IGlar) de lograr el objetivo más estricto de HbA<sub>1c</sub> ≤ 6,5 % sin episodios de hipoglucemia confirmada fue de 1,78 [0,90; 3,51]<sub>IC de 95%</sub>. No se observó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de tratamiento dado que el IC de 95 % para la relación de probabilidades estimadas (IDegAsp/IGlar) incluía el valor 1.

40 De conformidad con los análisis estadísticos planificados previamente, se analizó la proporción de sujetos que logran el objetivo de HbA<sub>1c</sub> < 7 % o HbA<sub>1c</sub> ≤ 6,5 % sin hipoglucemia severa. No se informaron episodios de hipoglucemia severa para este ensayo.

El siguiente análisis estadístico primario para HbA<sub>1c</sub> en la Semana 26 confirma la superioridad de la combinación de la presente invención.

45

Tabla 34

Grupo de análisis	Diferencia estimada [IC de 95 %]
FAS	-0,28 [-0,46; -0,10]

50

La Tabla 34 contiene un extracto de la Tabla 28.

Resumen del Ejemplo Clínico 5

55

En este ejemplo, IDegAsp se administra a pacientes con diabetes tipo 2 controlada de manera inadecuada con fármacos orales. Los resultados presentados en la presente descripción son de un ensayo Fase 3, controlado y aleatorizado.

60 Antecedentes y objetivos

65 La insulina degludec (Ideg) es una nueva insulina basal que forma múltiples hexámeros solubles después de la inyección por vía s.c., lo que da como resultado un efecto de reducción de la glucosa ultraprolongado y consistente. La insulina degludec/insulina aspártica (IDegAsp) es una coformulación soluble de IDEG (70 %) e insulina aspártica (30 %) que proporciona cobertura de insulina tanto a la hora de la comida como basal. Se investigó la eficacia y la seguridad de IDegAsp en adultos vírgenes para la insulina con diabetes de tipo 2 controlada de manera inadecuada

con fármacos antidiabéticos orales (OAD) en un ensayo de tratamiento hasta un objetivo, abierto, de 26 semanas, Fase 3.

#### 5 Materiales y métodos

Los participantes (media: 60,5 años de edad; HbA<sub>1c</sub> 8,4 %; glucosa plasmática en ayunas [FPG] 9,0 mmol/L; BMI 25,1 kg/m<sup>2</sup>; duración de la diabetes 11,7 años) se aleatorizaron a inyecciones una vez al día de IDegAsp (n=147) o insulina glargina (IGlar; n=149), con/sin hasta 2 OAD (con exclusión de sulfonilureas, inhibidores de dipeptidil peptidasa 4 y glinidas).

La IDegAsp se inyectó antes de la comida más grande del día según el criterio de cada participante (y se mantuvo a lo largo del ensayo); IGlar se inyectó a la misma hora cada día de acuerdo con la etiqueta. Las dosis de ambas insulinas se ajustaron para una FPG <5 mmol/L.

#### 15 Resultados

Después de 26 semanas, la HbA<sub>1c</sub> media fue 7,0 % con IDegAsp y 7,3 % con IGlar.

El análisis del cambio en la HbA<sub>1c</sub> respecto al valor inicial al final del ensayo demostró que IDegAsp fue superior a IGlar (diferencia entre tratamientos estimada (ETD) IDegAsp-IGlar: -0,28 %-puntos [-0,46; -0,10]<sub>IC de 95%</sub>, p<0,001). Al final del ensayo, una mayor proporción de sujetos logró HbA<sub>1c</sub> <7,0 % con IDegAsp (58,5 %) vs. IGlar (40,3 %). La FPG media fue similar para IDegAsp e IGlar (5,7 vs. 5,6 mmol/L; ETD IDegAsp-IGlar: 0,15 mmol/L [-0,29; 0,60], p=NS).

25 No se informó hipoglucemia severa.

Se informó hipoglucemia confirmada (PG <3,1 mmol/L) para 44 % de los sujetos en ambos grupos; IDegAsp se asoció con una tasa de hipoglucemia confirmada numéricamente menor (27 %) que IGlar (relación de tasas estimadas (ERR) IDegAsp/IGlar: 0,73 [0,50; 1,08] p=NS).

30 Una proporción significativamente mayor de sujetos logró una HbA<sub>1c</sub> <7,0 % al final del ensayo (sin hipoglucemia confirmada en las últimas 12 semanas de tratamiento) con IDegAsp en comparación con IGlar (43 % vs. 25 %; relación de probabilidades 2,21 [1,25; 3,92], p=0,003).

35 La tasa de hipoglucemia nocturna confirmada (hipoglucemia confirmada con aparición entre 00:01-05:59 h) fue numéricamente menor (en 25 %) con IDegAsp que con IGlar (RR: 0,75 [0,34; 1,64], p=NS).

40 Las dosis medias diarias de insulina fueron similares entre los grupos al final del ensayo (IDegAsp: 28 U; IGlar: 29 U) al igual que los aumentos en el peso corporal respecto al valor inicial (0,7 kg para ambos grupos). Las tasas totales de eventos adversos fueron similares entre los grupos sin patrón o agrupamiento específico del tratamiento.

#### Conclusión

45 La IDegAsp dosificada una vez al día con la comida más grande del día proporcionó un control de la glucemia a largo plazo superior con una FPG similar a IGlar a una tasa numéricamente menor de hipoglucemia total y nocturna.

Por lo tanto, se logró un control superior de la glucemia con una administración una vez al día de IDegAsp vs. IGlar en sujetos con diabetes tipo 2 controlados de manera inadecuada con fármacos orales.

#### 50 Análisis y conclusiones generales

##### Información antecedente

55 Se han desarrollado análogos de insulina que imitan de manera más cercana la secreción de insulina endógena en comparación con preparaciones de insulina humana y ahora son una parte establecida del control de la diabetes. IDegAsp es la primera insulina soluble lista para el uso que comprende tanto un componente de insulina basal (IDeg) como un componente de insulina en bolo (IAsp). En el presente ensayo, sujetos vírgenes para la insulina con diabetes mellitus tipo 2 controlada de manera inadecuada con OAD solos, se seleccionaron para investigar el uso de IDegAsp para la iniciación del tratamiento con insulina dado que IDegAsp ofrece cobertura basal de acción ultraprolongada con cobertura prandial adicional de una comida.

65 El ensayo se realizó para confirmar la eficacia y la seguridad del tratamiento con IDegAsp OD como monoterapia o en combinación con hasta 2 OAD, cuando los niveles de glucosa ya no se controlan con OAD solos en sujetos con diabetes mellitus tipo 2. El objetivo principal fue confirmar la eficacia de IDegAsp OD 6 OAD en el control de la glucemia con respecto al cambio en HbA<sub>1c</sub> respecto al valor inicial después de 26 semanas de tratamiento. Las

características iniciales fueron similares en los dos brazos de tratamiento y aproximadamente 93 % de los sujetos completaron el ensayo.

5 Como en cualquier ensayo abierto, puede existir un riesgo de sesgo de informe subyacente. En general, es probable que los investigadores estén más alertas cuando tratan sujetos con una entidad médica nueva tal como IDegAsp y además los sujetos pueden tener más dudas hacia un nuevo tratamiento. Esto podría influir en el informe de EA e hipoglucemia.

#### Control de la glucemia

10 IDegAsp fue superior a IGLar en términos de reducción de HbA<sub>1c</sub> con una diferencia clínicamente relevante de 0,28 %-puntos después de 26 semanas de tratamiento. Después de 26 semanas de tratamiento, la HbA<sub>1c</sub> media observada se redujo a 7,0 % en IDegAsp en comparación con 7,3 % en el grupo con IGLar. La reducción estimada en HbA<sub>1c</sub> fue -1,61 %-puntos con IDegAsp y -1,33 %-puntos con IGLar. La probabilidad estimada de lograr el objetivo de la ADA de HbA<sub>1c</sub> < 7 % con o sin hipoglucemia confirmada fue aproximadamente dos veces mayor con IDegAsp en comparación con IGLar, lo que resalta el hecho de que el tratamiento con la combinación de una insulina basal de acción ultraprolongada con cobertura prandial adicional en la comida principal proporciona un control superior de la glucosa sin comprometer la seguridad. Además, la probabilidad estimada de lograr el objetivo de la IDF de HbA<sub>1c</sub> < 6,5 % también fue aproximadamente dos veces mayor con IDegAsp en comparación con IGLar.

20 La reducción de FPG fue similar en ambos grupos de tratamiento después de 26 semanas de tratamiento pero se logró con un riesgo menor de episodios hipoglucémicos nocturnos y totales confirmados en los sujetos que recibieron IDegAsp.

25 Ambos tratamientos con IDegAsp e IGLar dieron como resultado reducciones totales en los perfiles de SMPG y el tratamiento con IDegAsp dio como resultado un incremento prandial menor en la comida nocturna principal y en todas las comidas en comparación con IGLar. El efecto superior de reducción de la glucosa de IDegAsp observado después de la comida nocturna principal refleja el beneficio de la cobertura prandial de IDegAsp. No hubo más eventos hipoglucémicos en el grupo con IDegAsp en comparación con el grupo con IGLar después de la comida nocturna principal. Esto respalda la ventaja de dejar que los pacientes elijan la hora de dosificación en dependencia de cuándo consumen su comida más grande. Que IDegAsp sea superior en el control de las desviaciones de la glucosa postprandial en comparación con IGLar sin comprometer el control de FPG, sugiere que la relación de la insulina degludec respecto a la insulina aspártica de IDegAsp es adecuada para este grupo de sujetos.

#### 35 Dosis de insulina y ajuste de la dosis

La iniciación de IDegAsp a 10 U OD parecía segura solo con algunos episodios hipoglucémicos informados durante las primeras 4 semanas de administración de insulina.

40 Las dosis medias diarias de insulina siguieron el mismo patrón en los grupos con IDegAsp e IGLar a lo largo del ensayo. Después de 26 semanas de tratamiento, las dosis medias de insulina fueron 28 U (0,41 U/kg) y 29 U (0,41 U/kg) en los grupos con IDegAsp e IGLar, respectivamente.

45 Las dosis de todos los sujetos en ambos grupos de tratamiento se ajustaron en base a la SMPG antes del desayuno independientemente de la hora de inyección. El cumplimiento del sujeto y una adhesión estrecha al algoritmo de ajuste de la dosis se indicaron en ambos grupos de tratamiento dado que las diferencias medias entre la dosis prescrita y la dosis real y entre la dosis del algoritmo de ajuste de la dosis y la dosis prescrita, respectivamente, fueron cercanas a 0 U (la diferencia media [dosis prescrita - dosis del algoritmo de ajuste de la dosis] estuvo entre -2 U y -1 U) a lo largo del ensayo.

50 El componente prandial de IDegAsp dio como resultado valores menores de glucosa después de la comida nocturna y a la hora de acostarse, lo que reduce por lo tanto la necesidad de cobertura de insulina basal durante la noche, por lo que el componente basal de IDegAsp (70 % de insulina degludec) es adecuado para lograr los mismos valores de FPG promedio que con IGLar.

#### 55 Hipoglucemia

La tasa observada de episodios hipoglucémicos confirmados fue numéricamente menor con IDegAsp en comparación con IGLar.

60 Una de las mayores preocupaciones de los sujetos con diabetes mellitus es el riesgo de episodios hipoglucémicos que se producen durante el sueño. El tratamiento con IDegAsp dio como resultado una tasa de episodios hipoglucémicos nocturnos confirmados numéricamente menor en comparación con IGLar mientras se mantiene un efecto superior de reducción de la glucosa después de 26 semanas de tratamiento. El perfil de acción más estable y plano del componente basal de IDegAsp hace posible que los sujetos alcancen el objetivo glucémico sin

65

comprometer la seguridad. No se informaron episodios de hipoglucemia severa o nocturna severa durante este ensayo en ningún grupo de tratamiento.

No hubo agrupamiento de episodios hipoglucémicos observados en ningún punto de tiempo durante el ensayo.

5

#### Seguridad y tolerabilidad

En general, el tratamiento con IDegAsp se toleró bien en este estudio y el perfil de EA de IDegAsp estuvo de acuerdo con el perfil de seguridad observado en el programa de desarrollo completo de IDegAsp donde no se identificaron señales de seguridad inesperadas. IDegAsp sigue siendo un tratamiento seguro, bien tolerado y eficaz.

10

#### Conclusiones generales

Los resultados de este ensayo de 26 semanas, controlado, aleatorizado, de confirmación, demuestran la eficacia y la seguridad de IDegAsp contra IGLar, ambas administradas una vez al día 6 fármacos antidiabéticos orales en sujetos vírgenes para la insulina con diabetes mellitus tipo 2. IDegAsp mejora eficazmente el control de la glucemia como se mide por HbA<sub>1c</sub> y los datos confirman la superioridad sobre IGLar con respecto a la reducción de HbA<sub>1c</sub> y la reducción del incremento de la glucosa plasmática prandial en la cena. IDegAsp es superior a IGLar en la obtención de una mayor proporción de sujetos hasta el objetivo de HbA<sub>1c</sub> < 7 % sin hipoglucemia confirmada. IDegAsp e IGLar dan como resultado una reducción similar en FPG. IDegAsp se asocia con una tasa de hipoglucemia confirmada e hipoglucemia nocturna confirmada numéricamente menor que IGLar. El peso corporal aumenta ligeramente en ambos grupos de tratamiento. En este ensayo, no se identificaron problemas de seguridad con IDegAsp.

15

20

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una combinación que comprende al menos un primer compuesto de tipo insulina y un segundo compuesto de tipo insulina para el uso en el tratamiento de la diabetes tipo 1 o la diabetes tipo 2 en un sujeto que lo necesita donde la administración de insulina sería beneficiosa para dicho sujeto; en donde dicho primer compuesto de tipo insulina es la insulina humana LysB29(Nε-hexadecandioil-y-Glu) des(B30) y dicho segundo compuesto de tipo insulina es la insulina humana Asp<sup>B28</sup>; en donde dicha combinación se administra una vez al día en una cantidad para lograr un control beneficioso de la glucemia en dicho sujeto como se determina por los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto después de la administración una vez al día de dicha combinación en la comida más grande del día para dicho sujeto; en donde dicho control beneficioso de la glucemia por dicha combinación comprende disminuir los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto a 7,0 % o menos después de la administración una vez al día de dicha combinación en la comida más grande del día.
- 10 2. Una combinación para el uso en el tratamiento de la diabetes tipo 1 o tipo 2 de acuerdo con la reivindicación 1 en donde en la comida más grande comprende o consiste en durante dicha comida así como también hasta 30 minutos antes de la primera ingesta de alimento y hasta 30 minutos después de la última ingesta de alimento de dicha comida.
- 15 3. Una combinación para el uso en el tratamiento de la diabetes tipo 1 o tipo 2 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde la combinación es capaz de provocar que el sujeto tenga menos hipoglucemia total en comparación con una dosis equivalente de IGlár.
- 20 4. Una combinación para el uso en el tratamiento de la diabetes tipo 1 o tipo 2 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde dicho sujeto padece de diabetes tipo 2.
- 25 5. Una combinación para el uso en el tratamiento de la diabetes tipo 1 o tipo 2 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde dicho primer compuesto de tipo insulina está presente en dicha combinación en una cantidad mayor que el segundo compuesto de tipo insulina.
- 30 6. Una combinación para el uso en el tratamiento de la diabetes tipo 1 o tipo 2 de acuerdo con cualquier reivindicación anterior en donde el segundo compuesto de tipo insulina está presente en dicha combinación en una cantidad molar de menos de 55 % en base a la cantidad molar del primer compuesto de tipo insulina en dicha combinación.
- 35 7. Una combinación para el uso en el tratamiento de la diabetes tipo 1 o tipo 2 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde dicho control beneficioso de la glucemia por dicha combinación es superior a cualquier control de la glucemia logrado por una dosis equivalente de IGlár en dicho sujeto después de la administración de IGlár a dicho sujeto; y en donde dicho control beneficioso de la glucemia por dicha combinación comprende disminuir los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto como se determina por los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto a 7,0 % o menos después de la administración de dicha combinación en la comida más grande del día.
- 40 8. Una combinación para el uso en el tratamiento de la diabetes tipo 1 o tipo 2 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde dicho control beneficioso de la glucemia por dicha combinación comprende disminuir los niveles de HbA<sub>1c</sub> en dicho sujeto a 7,0 % o menos después de la administración de dicha combinación en la comida más grande del día en un período de 26 semanas.
- 45

### Hemoglobina A<sub>1c</sub> media en el tiempo

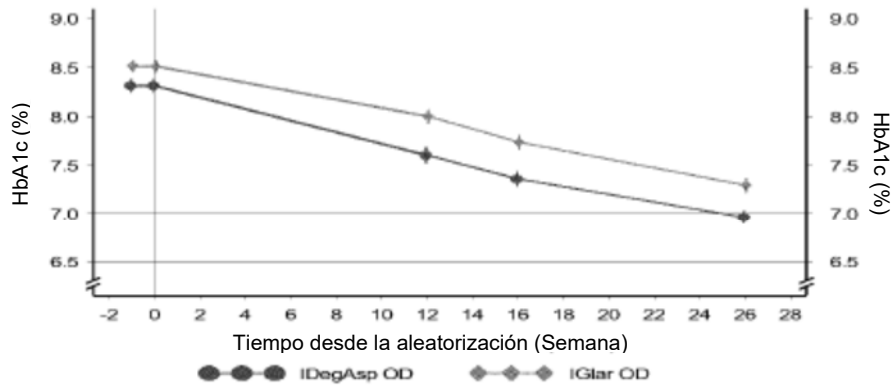


Fig. 1/2

### Cambio medio en la HbA<sub>1c</sub> en el tiempo

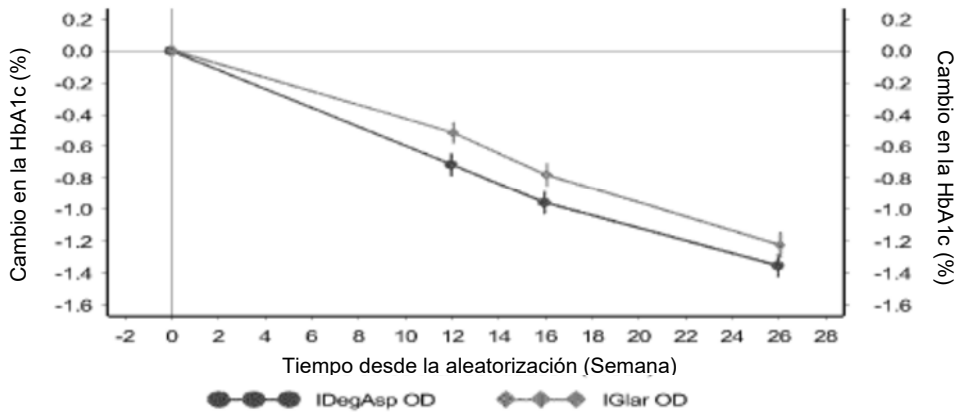


Fig. 2/2