

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 690 302**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 47/10 (2007.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 38/26 (2006.01)
A61K 38/28 (2006.01)
A61K 38/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA
TRAS OPOSICIÓN

T5

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.05.2011** **PCT/EP2011/058079**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.11.2011** **WO11144673**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2011** **E 11720115 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **19.06.2024** **EP 2571517**

54 Título: **Formulaciones de insulina de acción prolongada**

30 Prioridad:

10.02.2011 EP 11305140
13.07.2010 EP 10305780
19.05.2010 EP 10305532

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente modificada:
03.12.2024

73 Titular/es:

SANOFI (100.0%)
46 avenue de la Grande Armée
75017 Paris, FR

72 Inventor/es:

BECKER, REINHARD;
FRICK, ANNKE;
BODERKE, PETER;
FUERST, CHRISTIANE;
MUELLER, WERNER;
TERTSCH, KATRIN;
WERNER, ULRICH;
LOOS, PETRA y
SCHOETTLE, ISABELL

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 690 302 T5

DESCRIPCIÓN

Formulaciones de insulina de acción prolongada

La solicitud se refiere a una formulación farmacéutica acuosa con pH entre 3,4 y 4,6 que comprende insulina glargina, en donde la concentración de insulina glargina es de 270-330 U/mL, que es equimolar a 270-330 UI de insulina humana y su uso y que comprende además en el intervalo de 20-400 µg/mL de cinc.

La insulina glargina es 31^B-32^B-Di-Arg insulina humana, un análogo de insulina humana, con una sustitución adicional de asparagina en posición A21 por glicina.

Lantus® es un producto de insulina que contiene insulina glargina que proporciona un suministro de insulina basal de 24 horas después de una inyección subcutánea de una sola dosis.

El efecto glucodinámico de Lantus® se distingue del de otros productos de insulina comercializados actualmente por una absorción retrasada y predecible de insulina glargina desde el sitio de inyección subcutáneo, que da como resultado una concentración a lo largo del tiempo en 24 horas y un perfil de acción uniformes, sin un pico definido. Lantus® se desarrolló para satisfacer la necesidad médica de un producto de insulina de acción prolongada que pudiera administrarse como una sola inyección diaria para producir un control de glucosa en sangre normal o casi normal con un perfil de insulina basal tan uniforme como sea posible durante un periodo de 24 horas. Dicha preparación proporciona un buen control de la glucosa en sangre todo el día, mientras que minimiza la tendencia a producir hipoglucemia observada con otras preparaciones de insulina con un efecto "pico" más definido.

Un número considerable de pacientes, en particular los que tienen una resistencia a la insulina aumentada debido a la obesidad, usan grandes dosis para controlar la glucosa en sangre. Por ejemplo, una dosis de 100 U requiere la inyección de 1 mL de Lantus® U100, lo cual puede producir algunas molestias; cada ml de Lantus® U100 contiene 100 U (3,6378 mg) de insulina glargina. Para reducir el volumen de inyección, se ha desarrollado una formulación que contiene 300 U de insulina glargina por mL. Aunque la invención no se limita a una formulación de insulina glargina U 300, los estudios clínicos descritos en el presente documento se realizaron con una formulación de insulina glargina U 300; cada mL de insulina glargina U300 contiene 300 U (10,9134 mg) de insulina glargina. Esta formulación permitiría que los pacientes se inyectaran el mismo número de unidades de insulina glargina en un tercio del volumen de inyección. Era de esperar que las dos formulaciones de insulina glargina, U100 y U300, proporcionaran la misma exposición a la insulina y la misma eficacia, es decir, los mismos perfiles de tiempo.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Se ensayó la exposición y actividad de insulina glargina U300, la medicación de ensayo (T), en sujetos sanos no diabéticos en pinzamientos euglucémicos para comprobar la equivalencia en exposición y actividad a Lantus U100, el producto de referencia (R) aprobado. Para representar la larga duración de acción de la insulina glargina después de la administración subcutánea se seleccionaron 30 horas. La exposición se evaluó a partir de perfiles de concentración de insulina glargina frente al tiempo después de la administración subcutánea, mientras que la actividad se evaluó simultáneamente como utilización de glucosa por unidad de insulina.

Un diseño repetido permitió limitar el número de sujetos para evaluar la bioequivalencia y variabilidad como recomiendan las directrices de la FDA "Guidance for Industry, Statistical Approaches to Establishing Bioequivalence".

Se esperaba que el estudio clínico respectivo estableciera equivalencia en exposición y actividad.

Para este estudio se seleccionó una dosis de 0,4 U/kg; corresponde a la dosis media de insulina basal en los pacientes. En sujetos sanos no diabéticos, esta dosis produce una elevación considerable en la concentración plasmática de insulina y un efecto duradero de reducción de glucosa que puede cuantificarse en escenarios de pinzamiento euglucémico.

El diseño repetido preferido por las directrices requiere dos inyecciones repetidas de una sola dosis de IP (R: Lantus® U100, T: insulina glargina U300) en secuencias cruzadas de cuatro vías predefinidas (RTTR o TRRT) asignadas por el plan de aleatorización. Esto se hizo en Periodos (P) 1 - 4 en cuatro días diferentes. Como resultado, cada sujeto recibió dos dosis subcutáneas individuales repetidas de 0,4 U/kg de Lantus® U100 (R) e insulina glargina U300 (T), alternando entre dos sitios opuestos del área periumbilical.

Los días de dosificación se separaron por un periodo de eliminación de 4 a 18 días. La longitud del periodo de eliminación variaba individualmente, permitiendo que tanto el participante como el Investigador lo ajustaran a sus necesidades. Por experiencia, 4 días constituyen un periodo mínimo de recuperación, permitiendo 1 pinzamiento por semana para un participante, mientras que 18 días representan una ruptura de 3 semanas entre días de pinzamiento, permitiendo a los sujetos más libertad para cumplir con las obligaciones no relacionadas con el estudio.

Antes de las visitas de pinzamiento euglucémico, en la SCR (visita de selección), los sujetos se someten a una selección de elegibilidad, y en la visita EOS (final del estudio) los sujetos se someten a un examen final para asegurar un estado de salud normal. La selección y el P1 no tienen que estar separados por más de 21 días, mientras que las

visitas EOS no deben producirse antes que el mismo día de la semana que el Día 1 de P4 la semana siguiente, es decir, después de 4 días más, y no deben producirse después de una quincena después del Día 2 de P4, es decir, después de 14 días más.

- 5 Éste es un estudio de una sola dosis con un total de 4 administraciones repetidas. El efecto de los IP tenía que durar al menos aproximadamente 24 horas, lo cual es la causa de que los sujetos hayan permanecido en el instituto durante 2 días. Los sujetos se exponen al tratamiento 4 veces.

El objetivo primario del estudio fue evaluar la bioequivalencia media (ABE) de Lantus® U100 (formulación comercial) e insulina glargina U300 en biodisponibilidad (exposición) y bioeficacia (actividad) usando la técnica de pinzamiento euglucémico.

- 10 El objetivo secundario del estudio fue evaluar la seguridad y tolerancia de la insulina glargina U300.

Como se ha mencionado anteriormente, era de esperar que las formulaciones de insulina glargina U100 y U300 proporcionaran la misma exposición a la insulina y la misma eficacia. Sin embargo, sorprendentemente, se demostró que la exposición a la insulina y la eficacia no eran iguales. La insulina glargina U 100 y la insulina glargina U 300 no son equivalentes en biodisponibilidad (exposición) y bioeficacia (actividad). La exposición y actividad después de la administración de insulina glargina U300 eran aproximadamente 40% menores en comparación con la exposición y actividad después de la administración de la misma cantidad (0,4 U/kg) de insulina glargina U100.

- 15 Sin embargo, la insulina glargina U300 muestra un perfil de PD (actividad) y PK (exposición) incluso más plano que la insulina glargina U100, lo cual sería deseable para una insulina basal. Estas diferencias sorprendentes e inesperadas en exposición y actividad entre las formulaciones de insulina glargina U100 e insulina glargina U300 después de la misma dosis s.c. en sujetos sanos se muestran eficazmente las figuras presentadas más adelante. Debe tenerse en cuenta que al mismo tiempo la glucosa en sangre era constante.

- 20 El efecto reductor de la glucosa en sangre de la insulina glargina se evaluó adicionalmente en perros Beagle normoglucémicos sanos. Al aumentar la concentración de insulina glargina, el tiempo medio de acción aumentaba de 6,8 h (U100) a 7,69 h (U300), respectivamente. Al aumentar la concentración de glargina de 100 a 300 U/mL, el perfil de acción-tiempo de reducción de la glucosa en sangre cambiaba hacia una actividad más plana y prolongada en el perro. Los datos actuales en perros son coherentes con los datos en humanos, lo que demuestra que las mayores concentraciones de fármaco de insulina glargina están correlacionadas positivamente con el perfil y la mayor duración de la acción.

- 25 Además, los precipitados de formulaciones de insulina glargina que tienen concentraciones de 100 U/mL, 300 U/mL, 500 U/mL, 700 U/mL y 1000 U/mL se han investigado por microscopía. Estas investigaciones revelaron diferencias en las características de las precipitaciones, que conducían a partículas notablemente más grandes al aumentar las concentraciones.

- 30 También se investiga la influencia de las mayores concentraciones de formulaciones de insulina glargina con respecto a las propiedades de disolución usando un sistema de ensayo *in vitro*. Para hacer esto, se realizan estudios de precipitación usando un tampón fosfato con un pH de 7,4, que simula las condiciones *in vivo*.

El sobrenadante de la insulina precipitada se investiga usando técnicas de HPLC para determinar el contenido de insulina glargina.

El documento WO2008/013938 A2 desvela una formulación farmacéutica acuosa que comprende insulina glargina a una concentración de 684 U/mL.

- 40 El documento US 2004/048783 divulga una formulación que comprende insulina glargina y polisorbato.

Los estudios clínicos descritos en el presente documento se realizaron con una formulación de insulina glargina U 300.

1 mL de formulación de insulina glargina U 300 contiene 10,913 mg de 21^A-Gly-30^{Ba}-L-Arg-30^{Bb}-L-Arg insulina humana [equimolar a 300 UI de insulina humana], 90 µg de cinc, 2,7 mg de m-cresol, 20 mg de glicerol al 85%, HCl y NaOH hasta pH 4,0; gravedad específica 1,006 g/mL.

- 45 Sin embargo, son posibles variaciones con respecto al tipo de excipientes y sus concentraciones.

La formulación farmacéutica contiene 270-330 U/mL de insulina glargina, que es equimolar a 270-330 UI de insulina humana, preferiblemente 300 U/mL de insulina glargina, que es equimolar a 300 UI de insulina humana que comprende además en el intervalo de 20-400 µg/mL de cinc.

- 50 Se pueden añadir surfactantes a la formulación farmacéutica, por ejemplo, entre otros, surfactantes no iónicos. En particular, se prefieren los surfactantes farmacéuticamente habituales tales como, por ejemplo:

ésteres y éteres parciales y de ácidos grasos de alcoholes polihidroxílicos tales como glicerol, sorbitol y similares (Span®, Tween®, en particular Tween® 20 y Tween® 80, Myrj®, Brij®), Cremophor® o poloxámeros. Los tensioactivos

están presentes en la composición farmacéutica en una concentración de 5 - 200 µg/ml, preferiblemente de 5 - 120 µg/ml y, de una forma particularmente preferida, de 20 - 75 µg/ml.

5 La formulación puede contener además conservantes (por ejemplo, fenol, m-cresol, p-cresol, parabenos), agentes isotónicos (por ejemplo manitol, sorbitol, lactosa, dextrosa, trehalosa, cloruro sódico, glicerol), sustancias tampón, sales, ácidos y álcalis y también excipientes adicionales. Estas sustancias, en cada caso, pueden estar presentes de forma individual o, como alternativa, como mezclas.

10 El glicerol, la dextrosa, la lactosa, el sorbitol y el manitol pueden estar presentes en la preparación farmacéutica en una concentración de 100 - 250 mM, y el NaCl en una concentración de hasta 150 mM. Las sustancias tampón, tales como, por ejemplo, tampón fosfato, acetato, citrato, arginina, glicilglicina o TRIS (es decir, 2-amino-2-hidroximetil-1,3-propanodiol) y las sales correspondientes, están presentes en una concentración de 5 - 250 mM, preferiblemente 10 - 100 mM. Otros excipientes pueden ser, entre otros, sales o arginina.

La concentración de cinc de la formulación está en el intervalo de concentraciones que se alcanza por la presencia de 20 - 400 µg/mL de cinc, y más preferiblemente 90 µg/mL. Sin embargo, el cinc puede estar presente en forma de cloruro de cinc, pero la sal no se limita al cloruro de cinc.

15 En la formulación farmacéutica, el glicerol y/o manitol pueden estar presentes en una concentración de 100 - 250 mmol/L, y/o el NaCl preferiblemente está presente en una concentración de hasta 150 mmol/L.

En la formulación farmacéutica, una sustancia tampón puede estar presente en una concentración de 5 - 250 mmol/L.

20 Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica de insulina que contiene aditivos adicionales tales como, por ejemplo, sales que retrasan la liberación de insulina. En el presente documento se incluyen mezclas de dichas insulinas de liberación retardada con formulaciones descritas anteriormente.

Un objeto adicional de la invención se refiere a un método para la producción de dichas formulaciones farmacéuticas. Para producir las formulaciones, los ingredientes se disuelven en agua y el pH se ajusta usando HCl y/o NaOH. De forma similar, otro objeto de la invención se refiere al uso de dichas formulaciones para el tratamiento de diabetes mellitas.

25 Otro objeto la invención se refiere al uso o la adición de tensioactivos como estabilizantes durante el proceso para la producción de insulina, análogos de insulina o derivados de insulina o preparaciones.

La invención se refiere además a una formulación como se ha descrito anteriormente, que también comprende adicionalmente un péptido-1 similar a glucagón (GLP1) o un análogo o derivado del mismo, o exendina-3 o -4 o un análogo o derivado de la misma, preferiblemente exendina-4.

30 La invención se refiere además a una formulación como se ha descrito anteriormente, en la que el análogo de exendina-4 se selecciona de un grupo que comprende

H-desPro³⁶-exendina-4-Lys₆-NH₂,

H-des(Pro^{36,37})-exendina-4-Lys₄-NH₂ y

H-des(Pro^{36,37})-exendina-4-Lys₅-NH₂,

35 o una sal farmacológicamente tolerable de los mismos.

La invención se refiere además a una formulación como se ha descrito anteriormente, en la que el análogo de exendina-4 se selecciona del grupo que comprende

desPro³⁶ [Asp²⁸]exendina-4 (1-39),

desPro³⁶ [IsoAsp²⁸]exendina-4 (1-39),

40 desPro³⁶ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4 (1-39),

desPro³⁶ [Met(O)¹⁴, IsoAsp²⁸]exendina-4 (1-39),

desPro³⁶ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-2 (1-39),

desPro³⁶ [Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸]exendina-2 (1-39),

desPro³⁶ [Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4 (1-39) y

45 desPro³⁶ [Met(O)¹⁴Trp(O₂)²⁵, IsoAsp²⁸]exendina-4 (1-39),

o una sal farmacológicamente tolerable de los mismos.

La invención se refiere además a una formulación como se ha descrito en el párrafo anterior, en la que el péptido -Lys₆-NH₂ está unido al extremo C de los análogos de exendina-4.

La invención se refiere además a una formulación como se ha descrito anteriormente, en la que el análogo de exendina-4 se selecciona de un grupo que comprende

- 5 H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂
des Asp²⁸Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ exendina-4(1-39) -NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39) -NH₂,
H-Asn-(Glu)₅ des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39) -NH₂,
des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
- 10 H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
H- des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵]exendina-4(1-39) -NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39) -NH₂,
- 15 H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39) -NH₂,
des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
- 20 des Met(O)¹⁴ Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ exendina-4(1-39) -NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39) -NH₂,
H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸] exendina-4(1-39) -NH₂,
des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
- 25 H-Asn-(Glu)₅ des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸] exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-Lys₆-NH₂,
des Asp²⁸ Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵]exendina-4(1-39) -NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39) -NH₂,
H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Asp²⁸] exendina-4(1-39) -NH₂,
- 30 des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-(Lys)₆- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸]exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
H-Asn-(Glu)₅- des Pro³⁶, Pro³⁷, Pro³⁸ [Met(O)¹⁴, Trp(O₂)²⁵, Asp²⁸] exendina-4(1-39)-(Lys)₆-NH₂,
o una sal farmacológicamente tolerable de los mismos.

- 35 La invención se refiere además a una formulación como se ha descrito anteriormente, que comprende además Arg³⁴, Lys²⁶ (N^ε(γ-glutamyl(N^α-hexadecanoyl))) GLP-1 (7-37) [liraglutida] o una sal farmacológicamente tolerable del mismo.

Además, la formulación también puede comprender un análogo de exendina-4, tal como, por ejemplo, lixisenatida, exenatida y liraglutida. Estos análogos de exendina-4 están presentes en la formulación en el intervalo de 0,1 µg a 10 µg por U de insulina glargina, preferiblemente de 0,2 a 1 µg por U de insulina glargina y más preferiblemente de 0,25 µg a 0,7 µg por U de insulina glargina. Se prefiere la lixisenatida.

Además, la formulación farmacéutica acuosa puede comprender uno o más excipientes seleccionados del grupo que comprende m-cresol, glicerol, polisorbato 20 y sodio. Específicamente, la formulación farmacéutica acuosa puede comprender 90 µg/mL de cinc, 2,7 mg/mL de m-cresol y 20 mg/mL de glicerol al 85%. Opcionalmente, la formulación farmacéutica acuosa puede comprender 20 µg/mL de polisorbato 20.

- 5 El pH de la formulación farmacéutica acuosa está comprendido entre 3,4 y 4,6, preferiblemente es de 4 ó 4,5.

La presente invención se refiere a un método para tratar la Diabetes Mellitus de Tipo I y Tipo II que comprende administrar a dicho paciente la composición farmacéutica acuosa de la presente invención a un paciente diabético. Entre los intervalos de concentración se prefiere una concentración de 300 U/mL y el análogo de insulina preferido es la insulina glargina. Además, la formulación farmacéutica acuosa también puede comprender m-cresol, glicerol, polisorbato 20 y sodio y mezclas de los mismos en los intervalos descritos en el presente documento en relación con la formulación farmacéutica acuosa de la presente invención. En una realización preferida, la formulación farmacéutica acuosa también comprende de 0,1 µg a 10 µg de lixisenatida por U de insulina glargina.

La insulina se administra preferiblemente una vez al día, pero puede administrarse dos veces al día cuando sea necesario. Los requisitos de dosificación son una función de las necesidades del paciente individual determinadas por la obtención de niveles de glucosa en sangre normales o aceptables.

La presente invención también se refiere a un método para prolongar la duración de la exposición a la insulina glargina en el tratamiento de la Diabetes Mellitus de Tipo I y Tipo II en un paciente que comprende administrar a dicho paciente la formulación farmacéutica acuosa de la presente invención. Entre los intervalos de concentración divulgados se prefiere una concentración de 300 U/mL. Además, la formulación farmacéutica acuosa también puede comprender m-cresol, glicerol, polisorbato 20 y sodio y mezclas de los mismos en los intervalos descritos en el presente documento en relación con la formulación farmacéutica acuosa de la presente invención. En una realización preferida, la formulación farmacéutica acuosa también comprende de 0,1 µg a 10 µg de lixisenatida por U de insulina glargina.

La presente invención también se refiere a un método para reducir la incidencia de hipoglucemia en el tratamiento de la Diabetes Mellitus de Tipo I y Tipo II en un paciente con insulina glargina que comprende administrar a dicho paciente la formulación farmacéutica acuosa de la presente invención. Entre los diversos intervalos de concentración divulgados se prefiere una concentración de 300 U/mL. Además, la formulación farmacéutica acuosa también puede comprender m-cresol, glicerol, polisorbato 20 y sodio y mezclas de los mismos en los intervalos descritos en el presente documento en relación con la formulación farmacéutica acuosa de la presente invención. En una realización preferida, la formulación farmacéutica acuosa también comprende de 0,1 µg a 10 µg de lixisenatida por U de insulina glargina.

La presente invención también se refiere a un método para proporcionar una insulina basal de acción prolongada sin picos en el tratamiento de la Diabetes Mellitus de Tipo I o Tipo II en un paciente con insulina glargina que comprende administrar a dicho paciente la formulación farmacéutica acuosa de la presente invención. Entre los intervalos de concentración divulgados se prefiere una concentración de 300 U/mL. Además, la formulación farmacéutica acuosa también puede comprender m-cresol, glicerol, polisorbato 20 y sodio y mezclas de los mismos en los intervalos descritos en el presente documento en relación con la formulación farmacéutica acuosa de la presente invención. En una realización preferida, la formulación farmacéutica acuosa también comprende de 0,1 µg a 10 µg de lixisenatida por U de insulina glargina.

Uso de una formulación acuosa de acuerdo con cualquiera de los puntos anteriores en el tratamiento de la Diabetes Mellitus de Tipo 1 y la Diabetes Mellitus de Tipo 2.

40 Ejemplo 1: Descripción del protocolo

Este estudio fue un estudio cruzado de 2-secuencias, 2-tratamientos, cuatro periodos, diseño simple ciego, controlado, aleatorio y de un solo centro, realizado en sujetos sanos con seis visitas:

Visita 1:	Selección (SCR)
Visita 2 a 5, Periodo (P) 1-4:	Tratamiento, periodo de pinzamiento euglicémico
Visita 6:	Final de estudio (EOS)

Los sujetos recibieron dosis subcutáneas individuales de 0,4 U/kg de insulina glargina U100 e insulina glargina U300 de forma alterna, inyectadas en dos sitios opuestos del área periumbilical (izquierda, derecha, izquierda, derecha) en cuatro días diferentes. La medicación de estudio se administró con una repetición de tratamiento R y T en 2 secuencias, RTTR o TRRT en P1 a P4. Los días de dosificación se separaron por un periodo de eliminación de 4 a 18 días.

R:	0,4 U/kg de peso corporal de insulina glargina U100 (formulación comercial; Referencia)
T:	0,4 U/kg de peso corporal de insulina glargina U300 (Ensayo)

El P1 debe realizarse no más de 3 a 21 días después de la SCR. La visita EOS debe tener lugar entre 4 y 14 días después de P4.

Durante P1 a P4, los sujetos se conectaron a un Biostator para la medición de la glucosa en sangre y el ajuste de la velocidad de infusión de glucosa. Los niveles de glucosa en sangre y la velocidad de infusión de glucosa (GIR) se monitorizaron durante 90 minutos (periodo basal) antes de la inyección subcutánea de la medicación de estudio y durante 30 horas después de la administración de la medicación de estudio. Se comenzó la infusión de solución de glucosa al 20% para mantener los niveles sanguíneos de glucosa al 5% por debajo del nivel de glucosa en sangre en ayunas individual, determinado como la media de los 3 valores de glucosa en sangre en ayunas medidos 60, 30 y 5 minutos antes de la administración de la medicación del estudio. Se obtuvieron perfiles de GIR. Se tomaron muestras de sangre a tiempos predeterminados durante el periodo de pinzamiento euglucémico para la determinación de las concentraciones en suero de insulina glargina. Con la excepción de agua corriente, los sujetos se mantuvieron en ayunas durante el periodo de pinzamiento de glucosa.

Se esperaba que la duración de este estudio para un individuo fuera de hasta 13 semanas entre la SCR y la visita EOS.

El protocolo se presentó a comités de ética independientes y/o consejos de revisión institucionales para su revisión y para conseguir la aprobación por escrito. El protocolo cumplía con las recomendaciones del 18º Congreso Mundial del Cuidado de la Salud (Helsinki, 1964) y todas las enmiendas aplicables. El protocolo también cumplió las leyes y la normativa, así como cualquier directriz aplicable, de Alemania, donde se realizó el estudio. Se obtuvo el consentimiento informado antes de realizar cualquier procedimiento relacionado con el estudio.

Ejemplo 2: Selección de sujetos

Se planeó tratar veinticuatro (24) sujetos sanos para tener 20 individuos con datos completos.

Para la inclusión en el estudio se consideraron sujetos que cumplieran todos los siguientes criterios:

Demografía

- Sujetos de cualquier sexo con edades comprendidas entre los 18 y los 50 años;
- Peso corporal entre 50 kg y 110 kg y el índice de masa corporal entre 18 y 28 kg/m²;

Estado de Salud

- Certificado como sano después de una evaluación clínica exhaustiva (historia médica detallada y examen físico completo);
- No fumador durante al menos 3 meses;
- Electrocardiograma de 12 derivaciones, y signos vitales a menos que el Investigador considere que una anomalía es clínicamente irrelevante;
 - o Signos vitales normales después de 5 minutos de reposo en posición supina:
 - 95 mmHg ≤ presión sanguínea sistólica ≤ 140 mmHg;
 - 45 mmHg ≤ presión sanguínea diastólica ≤ 90 mmHg;
 - 40 lpm ≤ ritmo cardíaco ≤ 100 lpm;
 - o ECG de 12 derivaciones normal; 120 ms < PR < 220 ms, QRS < 120 ms, QTc ≤ 430 ms (para mujeres: QTc ≤ 450 ms);
- Parámetros de laboratorio dentro del intervalo normal a menos que el Investigador considere que una anomalía es clínicamente irrelevante para sujetos sanos; sin embargo, la creatinina en suero y las enzimas hepáticas (AST, ALT) deben estar estrictamente por debajo del límite superior del laboratorio;
- Control metabólico normal definido como glucosa en suero en ayunas (≤ 100 mg/dl) y hemoglobina glicosilada (HbA1c ≤ 6,1%).
- Los sujetos no deben usar de forma regular terapias con fármacos de prescripción, durante al menos las cuatro (4) semanas previas a la participación en el estudio;

Obligaciones para Sujetos del Sexo Femenino

- Los sujetos del sexo femenino en edad fértil (definidos como mujeres pre-menopáusicas y no esterilizadas

5 quirúrgicamente o post-menopáusicas desde hace menos de 2 años) y sexualmente activos deben poner en práctica un control de natalidad adecuado. Un control de la natalidad adecuado se define como un método anticonceptivo altamente eficaz (índice de Pearl < 1%) tal como implantes, inyectables, anticonceptivos orales combinados o DIU (dispositivos intrauterinos) hormonales. Post-menopáusico para los fines de este ensayo clínico incluye: amenorrea durante 2 o más años o estéril quirúrgicamente;

- Los sujetos del sexo femenino deben someterse a un ensayo de embarazo de gonadotropina coriónica humana beta en orina (beta-HCG) y dar un resultado negativo durante la selección previa al estudio, y antes del primer pinzamiento;

Regulaciones

- 10
- Haber dado un consentimiento informado por escrito antes de cualquier procedimiento relacionado con el estudio;
 - Estar cubierto por un Sistema de Seguro Médico y/o en conformidad con las recomendaciones de la Ley Nacional en vigor en relación con la investigación biomédica;
 - No estar bajo ninguna supervisión administrativa o legal

Los sujetos que presenten cualquiera de los puntos siguientes no se incluyen en el estudio:

15 Historia médica y estado clínico

- Cualquier historia o presencia de enfermedad cardiovascular, pulmonar, gastrointestinal, hepática, renal, metabólica, hematológica, neurológica, psiquiátrica, sistémica, ocular o infecciosa clínicamente relevante; cualquier enfermedad infecciosa aguda o signo de enfermedad aguda;
- Presencia o historia de alergia a fármacos, o enfermedad alérgica diagnosticada y tratada por un médico;

20

- Consumo excesivo de bebidas con bases de xantina (> 4 copas o vasos/día);
- Contraindicaciones por (de acuerdo con los intervalos normales - si el valor está fuera del intervalo normal, el sujeto puede incluirse si el Investigador considera clínicamente irrelevante este valor anormal):

- la historia médica/quirúrgica y examen físico

- ensayos de laboratorio (hematología, química clínica y análisis de orina con tiras reactivas)

25

- electrocardiograma estándar de 12 derivaciones

- Cualquier tratamiento en curso con fármacos prescritos o cualquier tratamiento regular con fármacos prescritos en las 4 semanas previas a la participación en el estudio

30

- Síntomas de una enfermedad clínicamente significativa en los 3 meses previos al estudio, o de cualquier enfermedad de medicina interna importante en las 4 semanas previas al estudio que, de acuerdo con la opinión del Investigador, pudiera interferir con los fines del estudio.

- Presencia o secuelas de una enfermedad u otras afecciones que se sabe que interfieren con la absorción, distribución, metabolismo o excreción de fármacos.

- Historia de abuso de drogas o alcohol.

35

- Historial de hipersensibilidad a la medicación de estudio o a fármacos con estructuras químicas similares.

- Enfermedad fatal progresiva.

- Cirugía planeada previamente durante el estudio.

- Donación de más de 500 mL de sangre durante los 3 meses previos.

No se permitió que ningún sujeto se incluyera en este estudio más de una vez.

40 Condiciones generales

- Sujetos que, según el juicio del Investigador, es probable que no presenten adherencia al tratamiento durante el estudio, o son incapaces de cooperar debido a un problema de lenguaje o a un desarrollo mental deficiente o debido a una afección mental que hace que el sujeto no pueda comprender la naturaleza, alcance y posibles consecuencias del estudio

- Sujeto en periodo de exclusión de un estudio previo de acuerdo con la normativa aplicable;
- El sujeto es el Investigador o cualquier Sub-Investigador, Ayudante de Investigación, Farmacéutico, Coordinador del Estudio u otro miembro del Personal, implicado directamente en la realización del protocolo;
- Recepción de un fármaco experimental en los 30 días previos antes de la SCR.

5 Estado biológico

- Reacción positiva a cualquiera de los siguientes ensayos: antígeno HBs, anticuerpos anti-VHC, anticuerpos anti-VIH1, anticuerpos anti-VIH2;
- Resultados positivos tras la exploración de drogas en orina en la SCR (anfetaminas/metanfetaminas, barbituratos, benzodiazepinas, cannabinoides, cocaína, opiáceos);

- 10 • Ensayo de alcohol en el aliento con resultado positivo

Ejemplo 3: Tratamientos

Detalles de los Tratamientos de Estudio

Código de fármaco: HOE901 (Formulación comercial Lantus® U100)	(Formulación de insulina glargina U300)
DCI: Insulina glargina (análogo de insulina humana recombinante)	Insulina glargina (análogo de insulina humana recombinante)
Formulación: Cartuchos para 3 mL de solución U100 (1 mL contiene 3,637 mg de 21 ^A -Gly-30 ^B a-L-Arg-30 ^B b-L-Arg insulina humana [equimolar a 100 UI de insulina humana], 30 µg de cinc, 2,7 mg de m-cresol, 20 mg de glicerol al 85%, HCl y NaOH hasta pH 4,0; gravedad específica 1,004 g/mL).	Cartuchos para 3 mL de solución U300 (1 mL contiene 10,913 mg de 21 ^A -Gly-30 ^B a-L-Arg-30 ^B b-L-Arg insulina humana [equimolar a 300 UI de insulina humana], 90 µg de cinc, 2,7 mg de m-cresol, 20 mg de glicerol al 85%, HCl y NaOH hasta pH 4,0; gravedad específica 1,006 g/ml).
Dosis/vía de administración	
0,4 U/kg de peso corporal; una sola inyección s.c. en el abdomen periumbilical después de una noche en ayunas	0,4 U/kg de peso corporal; una sola inyección s.c. en el abdomen periumbilical después de una noche en ayunas
Fabricante: Sanofi-Aventis Deutschland GmbH	Fabricante: Sanofi-Aventis Deutschland GmbH

Cálculo de la Dosis para la formulación de Lantus®/insulina glargina

- 15 Para calcular la cantidad de insulina glargina administrada para cada sujeto (0,4 U/kg), el peso corporal (en kg) se determinó con un decimal y la cantidad de insulina calculada se redondeó hacia arriba o hacia abajo al número entero más próximo como se muestra en los siguientes ejemplos: un sujeto con un peso corporal de 75,3 kg recibió 30 U de insulina ($75,3 \times 0,4 = 30,12$ que se redondea hacia abajo a 30); un sujeto con un peso corporal de 74,4 kg recibió 30 U de insulina ($74,4 \times 0,4 = 29,76$, que se redondea hacia arriba a 30). El peso corporal registrado durante el Día 1 del
- 20 Periodo 1 se usó para el cálculo de la dosis de medicación de estudio para los Periodos 2, 3 y 4, a menos que el peso corporal cambiara más de 2 kg en comparación con el Periodo 1.

- La cantidad en Unidades fue la misma para la insulina glargina U100 y la insulina glargina U300. Esta gravedad específica es igual para los dos productos farmacéuticos. Sin embargo, dada la concentración tres veces mayor de insulina glargina en la insulina glargina U300 en comparación con la insulina glargina U100, el volumen a inyectar y, por lo tanto, el peso fue 1/3 para la insulina glargina U300. Las jeringas que proporcionaban la dosis individual se prepararon en peso. El peso neto se documentó sólo en la documentación fuente del Investigador.
- 25

Cálculo y Preparación de la Dosis para Infusiones

Tabla 1 - Preparación de infusión

Código de Fármaco	DCI	Formulación	Fabricante	Dosis/Vía de administración
Glucosa	Glucosa	solución al 20% para infusión	Certificado, seleccionado por PROFIL	infusión iv
Heparina Sódica Intramed	Heparina	Vial que contiene 5 ml de solución (5000 UI/ml)	Certificado, seleccionado por PROFIL	infusión iv
Cloruro Sódico al 0,9%	Cloruro Sódico	Solución	Certificado, seleccionado por PROFIL	infusión iv

5 Solución de glucosa: se infundió solución de glucosa al 20% con el Biostator para mantener la glucosa en sangre individual de los sujetos al nivel diana determinado. Una segunda bomba de infusión (parte del Biostator) suministró solución de cloruro sódico al 0,9% para mantener la vía patente. En caso de que fuera necesario que la cantidad de solución de glucosa al 20% excediera la capacidad de infusión del Biostator, se acopló una segunda bomba de infusión de glucosa.

10 Heparina: se infundieron 10000 UI de heparina en 100 mL de solución de cloruro sódico al 0,9% en el catéter de doble lumen a una velocidad de aproximadamente 2 mL/h para mantenerlo patente para la medición de glucosa en sangre por el Biostator.

Descripción de los métodos de diseño ciego:

Éste fue un estudio simple ciego. Los diferentes volúmenes de inyección impiden el desconocimiento de la medicación. La inyección se realizó por una persona médica autorizada no implicada de otra manera en el estudio. El Investigador tenía acceso al código de aleatorización.

15 Método para asignar los sujetos al grupo de tratamiento

La medicación de estudios se administró sólo a sujetos incluidos en este estudio siguiendo los procedimientos expuestos en el protocolo de estudio clínico.

Se generó un programa de aleatorización, que asoció los números de aleatorización, estratificados por sexo, a las secuencias de tratamiento de las dos formulaciones de Lantus® a inyectar en P1 a P4.

20 En la mañana del Día 1 del Periodo 1, en cuanto el Investigador confirmó que los sujetos cumplían los criterios especificados en el protocolo, los sujetos elegibles se aleatorizaron por el centro. El número de aleatorización se asignó al número de sujeto posteriormente en el orden en el que se había confirmado la elegibilidad de los sujetos antes de P1. El primer sujeto para una cualificación de estrato de sexo después de la SCR recibió el primer número de aleatorización para el estrato de sexo apropiado. El siguiente sujeto que se cualifica dentro de un estrato recibió el siguiente número de aleatorización dentro del estrato. El número de aleatorización se usó como número de kit de tratamiento para asignar el kit de tratamiento al sujeto. Cada sujeto recibió la medicación de estudio que llevaba el número de kit de tratamiento que se le había asignado. El kit de tratamiento que contenía la información general del IP, número de kit de tratamiento, número de periodo, un campo para escribir el número del sujeto en la caja del envase, y declaraciones adicionales requeridas por la normativa local.

30 Los sujetos que interrumpieron permanentemente el estudio conservaron el número de sujeto y el número de aleatorización, si ya se les había dado.

Envase y etiquetado

35 La medicación de estudio se envasó por Sanofis-Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt am Main, Alemania, de acuerdo con el plan de aleatorización. Los cartuchos que contenían la medicación de estudio y las cajas en las que se envasaron tenían una etiqueta con el número de estudio, el número de aleatorización, el número de lote, las condiciones de almacenamiento, el Patrocinador y el número de P.

Los suministros de medicación de estudio se recibieron en una remesa. Todos los recipientes tenían etiquetas de formato idéntico. Además, se suministró 1 serie de etiquetas para jeringas. La medicación de estudio y la medicación de reserva se almacenaron en neveras diferentes.

40 Antes de la administración de la medicación de estudio, el Farmacéutico o la persona designada por él preparó las jeringas con la medicación de estudio apropiada y etiquetó la jeringa con el número del sujeto, el número de aleatorización y el periodo apropiado de acuerdo con los recipientes de medicación de estudio.

El contenido de la etiqueta estaba de acuerdo con las especificaciones y requisitos reguladores locales.

Condiciones de almacenamiento

5 La medicación de estudio se almacenó protegida de la luz a una temperatura de +2 °C a +8 °C. Se impidió que la medicación de estudio se congelara. Durante la preparación, no fue necesario que la medicación estuviera protegida de la luz.

Se almacenaron muestras de reserva (300 cartuchos Lantus® U100 y 300 cartuchos de insulina glargina U 300) en las mismas condiciones seguras a nivel del centro de estudio.

Ejemplo 4: Evaluación del producto de investigación

Actividad o farmacodinámica

10 El modo de acción es la estimulación de los receptores de insulina por la insulina glargina. La captación de glucosa periférica posterior y la supresión de la producción de glucosa endógena constituyen los efectos glucodinámicos que producen una reducción en la concentración de glucosa en sangre. La utilización de glucosa resultante se caracteriza mejor por la medida de glucosa necesaria para mantener constante la concentración de glucosa en sangre.

15 Para evaluar la cantidad de glucosa necesaria para mantener las concentraciones de glucosa en sangre a 5% por debajo del nivel basal después de la inyección de insulina glargina, se empleó la técnica de pinzamiento euglucémico.

Métodos de Evaluación Clínica

Se realizó una determinación de la glucosa en sangre online por el Biostat (Life Sciences instruments, Elkhart, IN, USA) empleando el método de glucosa oxidasa.

20 La glucosa en sangre offsite se determinó con un analizador de glucosa Super GL usando también el método de glucosa oxidasa.

Variables/Criterios de Valoración Farmacodinámicos

La cantidad de glucosa utilizada por unidad (dosis) de insulina inyectada por vía subcutánea es una medida del efecto glucodinámico.

25 La velocidad de infusión de glucosa (GIR) registrada continuamente es un reflejo del perfil de acción en el tiempo de la insulina inyectada.

Variable/Criterio de Valoración Primario

La variable farmacodinámica primaria es el área bajo la curva de velocidad de infusión de glucosa frente al tiempo en 24 horas [GIR-AUC_{0-24h} (mg.kg⁻¹)].

Variable/Criterio de Valoración Secundario

30 La variable farmacodinámica secundaria es el tiempo hasta 50% GIR-AUC_{0-24h} [T_{50%} - GIR-AUC_(0-24h) (h)].

Farmacocinética

Tiempos de Muestreo

35 Las muestras de sangre para la evaluación de las concentraciones en suero de insulina glargina y péptido C se tomaron 1 hora, 30 min e inmediatamente antes de la inyección subcutánea de la medicación de estudio, y posteriormente 30 min, 1 hora, 2 horas y después cada dos horas hasta 24 horas, y 30 horas después de la inyección.

La numeración de las muestras de insulina glargina fue P00, P01, P02, P03, P04, etc., la numeración de muestras de péptido C fue C00, C01, C02, C03, C04, etc. (véase también el diagrama de flujo del estudio).

Número de Muestreo Farmacocinético

40 Se tomaron un mínimo de 18 muestras por visita de pinzamiento (P1 a P4). En total, se tomaron 72 muestras por sujeto.

Procedimiento de Manipulación PK

El tiempo exacto de recogida de muestras debe registrarse en el CRF. Se han usado procedimientos especiales para el almacenamiento y transporte de muestras farmacocinéticas (insulina glargina, péptido C).

Método Bioanalítico

El bioanálisis se realizó usando como base los requisitos de la Buena Práctica de Laboratorio (GLP) aplicables a este tipo de estudio, identificados en la OECD Principles of Good Laboratory Practice (revisado en 1997), ENV/MC/CHEM (98)17 y la normativa de la GLP aplicable al país local.

Como no se dispone de muestras de reserva, se da prioridad a la determinación de la insulina glargina.

5 Insulina Glargina

Las concentraciones en suero de insulina glargina se determinaron usando un radioinmunoensayo (RIA) para insulina humana (Kit RIA de Insulina, ADALTIS, Italia) calibrado para insulina glargina. Kit REF 10624.

El límite inferior de cuantificación (LLOQ) para este ensayo fue 4,92 $\mu\text{U}/\text{mL}$.

Péptido C

- 10 Las concentraciones en suero de péptido C se determinaron usando un radioinmunoensayo (RIA) para el péptido C (kit RIA del péptido C, ADALTIS, Italia). Kit REF péptido C 10282. El límite inferior de cuantificación (LLOQ) fue 0,090 nmol/L.

Resumen del Método Bioanalítico

	Analito	insulina, péptido C
15	Matriz	suero
	Técnica Analítica	RIA
	Límite inferior de cuantificación	4,92 $\mu\text{U}/\text{mL}$ de insulina; 0,090 nmol/L de péptido C
	Volumen de ensayo	100 μL para insulina; 100 μL para péptido C
20	Referencia del Método	Adaltis S.p.A. Italia; Kit REF 10624 Insulina (Método N° 435VAL02) y Kit REF péptido C 10282 (Método N° DMPK/FRA/2003-0002)

Variables/Criterios de Valoración Farmacocinéticos

La curva de concentración de insulina glargina frente al tiempo fue una medida de la exposición sistémica a la insulina del IP inyectado por vía subcutánea.

Variable/Criterio de Valoración Primario

- 25 La variable farmacocinética primaria fue el área bajo la curva de concentración en suero de insulina glargina frente al tiempo [INS-AUC_{0-24h} ($\mu\text{U}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$)].

Variable/Criterio de Valoración Secundario

La variable farmacocinética secundaria fue el tiempo hasta 50% INS-AUC_{0-24h} [$T_{50\%}$ - INS-AUC_(0-24h) (h)].

Volumen de sangre muestreado

Volumen de sangre muestreado	
Obtención de Sangre/Genotipificación	0 mL
Hematología/Química clínica/Serología (20 + 12 ml)	32 mL
RBC, Hb, Hct (2x2 ml) opcional	4 mL
Glucosa en sangre (2 ml/hx32x4)	256 mL
Glucosa en sangre (0,3 mlx4x34)	41 mL
Insulina glargina PK (3,5 mlx18x4)	252 mL
Total	585 mL

30

Medidas para proteger el diseño ciego del ensayo

Éste fue un ensayo simple ciego. Las determinaciones bioanalíticas se realizaron después de finalizar la fase clínica.

El código de tratamientos se conocía para notificar cualquier Acontecimiento Adverso Grave (SAE) inesperado y asociado de forma razonable con el uso del IP de acuerdo con el criterio del Investigador y/o el Patrocinador.

Ejemplo 5: Procedimientos de Estudio

Programa de Visitas

5 Procedimientos de Selección

Los registros médicos de cada sujeto potencial se comprobaron antes de iniciar el estudio para determinar la elegibilidad para la participación. Los sujetos permanecieron en ayunas (con la excepción de agua) durante las 10 horas previas al examen de selección en la SCR.

Se evaluaron los siguientes puntos/exámenes:

- 10 • Edad y raza
- Examen físico (incluyendo el sistema cardiovascular, tórax y pulmones, tiroides, abdomen, sistema nervioso, piel y mucosas y sistema musculoesquelético).
- Historia médica y quirúrgica relevante (sólo se documentarán los descubrimientos relevantes para el estudio).
- Antropométrica: altura y peso, cálculo del IMC [peso en kg.(altura en m)⁻²].
- 15 • Presión sanguínea y ritmo cardíaco (después de 5 min en posición supina y 3 min en posición vertical).
- Temperatura corporal central (timpánica).
- ECG estándar de 12 derivaciones.
- Estado de hematología, química clínica y análisis de orina (por tira reactiva).
- Estado de coagulación (INR, aPPT).
- 20 • Exploración de drogas en orina.
- Exploración de alcohol (analizador en el aliento).
- Control metabólico normal definido como glucosa en sangre en ayunas ($\leq 100 \text{ mg.dL}^{-1}$) y hemoglobina glicosilada ($\text{HbA1c} \leq 6,1\%$).
- Ensayo de hepatitis B/C y VIH
- 25 En caso de que el sujeto falle la selección, todos los datos obtenidos en la SCR, incluyendo los resultados de laboratorio de los ensayos de selección, están disponibles en el registro médico del sujeto.

Descripción por Tipo de Visita

Periodo(s)

- 30 Cada periodo de estudio (P1 a P4) duró 2 días, Día 1 y Día 2. El Día 1 fue el día de inicio del pinzamiento euglucémico y la administración de la medicación de estudio. El Día 2 fue el día de la finalización del pinzamiento euglucémico, que duró 30 horas después de la administración de la medicación de estudio. Hubo un periodo de eliminación de 4 - 18 días entre los periodos de estudio (P1 - P4). No se permitió ninguna actividad fatigosa (por ejemplo, montar en bicicleta de montaña, trabajar intensamente en el jardín, etc.) en los 2 días previos a cada administración de la medicación de estudio. No se permitió el consumo de bebidas alcohólicas, zumo de pomelo y bebidas estimulantes que contuvieran derivados de xantina (té, chocolate, café, bebidas de tipo Coke™, etc.) y pomelo durante las 24 horas previas a la finalización del pinzamiento euglucémico. Los sujetos permanecieron en ayunas (con la excepción de agua) durante 10 horas antes del Día 1 de cada periodo de estudio (P1 a P4) y permanecieron en ayunas (con la excepción de agua) hasta la finalización del pinzamiento euglucémico. Los sujetos tuvieron que permanecer en la clínica durante aproximadamente 32 horas en cada visita de pinzamiento.
- 40 La mañana del Día 1 del Periodo 1, se asignó al sujeto el número de sujeto de 9 dígitos, empezando con 276001001. El siguiente sujeto cualificado para pasar la SCR recibió el número de sujeto 276001002, etc. El primer sujeto recibió el número de aleatorización 101. El siguiente sujeto cualificado recibió el número de aleatorización 102.

- 45 Se pidió a los sujetos que se aseguraran de que no habían experimentado cambios clínicamente significativos en su estado físico y habían seguido las restricciones generales y dietéticas definidas en el protocolo desde los periodos previos. La violación del criterio de estudio excluyó a los sujetos de la participación en el estudio. Dependiendo del

tipo de violación, el sujeto se podría excluir sólo del periodo particular, permitiendo una reprogramación del día de estudio. Cualquier violación del protocolo se analizó con el Patrocinador en una base de caso por caso de antemano.

Cualquier cambio en el estado de salud de los sujetos desde el último periodo se notificó en el registro médico del sujeto (fuente) y el CRF.

- 5 La presión sanguínea, el ritmo cardíaco y la temperatura corporal central (timpánica) se registraron en posición supina después de al menos 5 minutos de reposo la mañana del Día 1, antes y después de los procedimientos de pinzamiento 30 horas después de la administración de cada medicación de estudio (Día 2). El peso corporal, la exploración de alcohol y los niveles de RBC, Hb, HcT (sólo antes del periodo de pinzamiento de P3 y P4) se evaluaron únicamente antes de empezar el pinzamiento en la mañana del Día 1.
- 10 El Día 1 de cada periodo, los sujetos se admitieron en la clínica a las 6:30 am. Después de pasar los exámenes descritos anteriormente, los sujetos se prepararon con tres vías venosas. Se puso una cánula en una vena dorsal de la mano o una vena lateral de la muñeca del brazo izquierdo de forma retrógrada y se conectó a un Biostator (Life Sciences Instruments, Elkhart, IN, USA) para extraer de forma continua sangre venosa arterializada para la determinación de la glucosa en sangre. Para conseguir la arterialización de la mano izquierda, se puso en una "Hot-Box" a aproximadamente 55 °C. Se puso una segunda vía venosa en la vena antecubital del brazo izquierdo y se usó para recoger muestras para la determinación de la insulina glargina en suero y la determinación de la glucosa en sangre de referencia. Se puso una cánula en una tercera vena en el antebrazo contralateral, que permitía la infusión de solución de glucosa al 20% y solución salina al 0,9% con el Biostator.
- 15 El Biostator determinó los niveles sanguíneos de glucosa y ajustó la velocidad de infusión de glucosa para mantener los niveles de glucosa en sangre a 5% por debajo de la glucosa en sangre en ayunas individual, determinada como la media de los tres valores de glucosa en sangre en ayunas medidos 60, 30 y 5 minutos antes de la administración de la medicación de estudio. Se tomaron muestras adicionales de sangre de 0,3 ml para la determinación de la glucosa en sangre 60, 30 y 5 minutos antes de la administración de la medicación de estudio para comprobar frente a una referencia de laboratorio basándose en el método de glucosa oxidasa.
- 20 A aproximadamente las 09:00 am, se inyectó insulina glargina U100 (formulación comercial) o insulina glargina U300 en el área periumbilical al lado del ombligo a una distancia de 5 cm (izquierda, derecha, izquierda, derecha) usando una técnica estandarizada de plegamiento de piel. Se usaron jeringas de insulina U100 (fabricante: Beckton & Dickinson) con un volumen de 0,5 ml con una aguja de 0,30 x 8 mm (30G).
- 25 La medicación de estudio se etiquetó con su número de kit de tratamiento respectivo, el número de sujeto (a documentar en la caja de envase después de la aleatorización) y el número de Periodo (véase la Sección 8.5 Envasado y Etiquetado).
- 30 Después de la administración de la medicación de estudio, se comenzó la infusión de solución de glucosa al 20% a una velocidad variable una vez que el nivel de glucosa en sangre se redujo 5% desde el nivel de ayunas individual, para mantener ese nivel. La duración del periodo de pinzamiento fue de 30 horas. La velocidad de liberación de glucosa se ajustó por el Biostator en respuesta a los cambios en la glucosa en sangre a intervalos de un minuto usando un algoritmo predefinido. Los valores de glucosa en sangre del Biostator se comprobaron frente a una referencia de laboratorio basándose en el método de glucosa oxidasa a intervalos de 30 minutos para el pinzamiento entero. Cuando fue necesario, el Biostator se recalibró de acuerdo con los resultados del método de referencia de laboratorio. Los sujetos permanecieron en posición supina durante el periodo de pinzamiento.
- 35 Se tomaron muestras de sangre para la determinación de las concentraciones en suero de insulina glargina y péptido C 1 hora, 30 min e inmediatamente antes de la medicación y, posteriormente, 30 min, 1 hora, 2 horas y después cada 2 horas hasta 24 horas, y 30 horas después de la administración de la medicación de estudio.
- 40 El día 2 de cada periodo de estudio (P1 a P4), se sirvió una comida después de completar el pinzamiento euglicémico. Se registraron la presión sanguínea, el ritmo cardíaco y la temperatura corporal central (timpánica), y se tomó una muestra para determinar la glucosa en sangre. Los sujetos salieron de la clínica después de haber asegurado su seguridad por el Investigador.
- 45

Los sitios de inyección se observaron durante el periodo entero de pinzamiento. Cualquier cambio en el estado de salud de los sujetos se notificó en el registro médico del sujeto (fuente) y el CRF.

Hematología de Seguridad

- 50 Se analizaron los niveles de RBC, Hb y Hct en P3 para determinar si se iba a producir anemia en P4. Si el resultado era positivo, el intervalo entre P3 y P4 se prolongaba hasta el máximo permitido de 18 días y se realizaba una evaluación adicional de RBC, Hb y Hct antes del P4.

Procedimientos de Alta

Los sujetos volvieron para una visita EOS entre 4 y 14 días después del P4. Los sujetos permanecieron en ayunas

(con la excepción de agua) durante 10 horas. Cualquier cambio en el estado de salud de los sujetos desde el último periodo se notificó en los registros médicos del sujeto (fuente) y el CRF.

Se evaluaron los siguientes puntos/exámenes:

- 5
 - Examen físico (incluyendo sistema cardiovascular, tórax y pulmones, tiroides, abdomen, sistema nervioso, piel y mucosas y sistema musculoesquelético).
 - Peso.
 - Presión sanguínea y ritmo cardíaco (después de 5 min en posición supina)
 - Temperatura corporal central (timpánica)
 - ECG estándar de 12 derivaciones
- 10
 - Estado hematológico, química clínica y análisis de orina (con tiras reactivas)
 - Ensayo de β -HCG en orina (sólo para mujeres)

Los sujetos recibieron el alta el Día 2 de cada periodo, después de una revisión completa por el Investigador de los datos de seguridad disponibles.

Programa de Recogida de Muestras Biológicas

15 Sangre

SCR (Selección):

- Hematología, Química Clínica, HbA1c, Serología (ensayo de Hepatitis B/C, ensayo de VIH): se recogieron aproximadamente 20 mL de sangre.
- P1 a P4 (Día 1 y 2):
- 20
 - Glucosa en sangre

El Biostator midió automáticamente la glucosa en sangre a intervalos de un minuto durante todo el periodo de pinzamiento, incluyendo el periodo previo a la medicación de estudio. El volumen de sangre necesario por el Biostator fue de 2 mL.h⁻¹. Se necesitó un volumen de sangre estimado de 252 mL para las lecturas de glucosa con el Biostator para los cuatro periodos. Se recogieron muestras de sangre (0,3 mL) para comprobar los valores de glucosa en sangre del Biostator 60, 30, 5 y 0 minutos antes de la dosificación y a intervalos de 30 minutos después de la dosificación hasta el final de pinzamiento (30 horas). Se recogió un volumen de sangre estimado de 41 mL durante los cuatro periodos.

- Concentraciones de insulina glargina y péptido C en suero
- 30
 - Se recogieron muestras de sangre venosa (3,5 mL) 1 hora, 30 min e inmediatamente antes de la dosificación, 30 min, 1 hora, 2 horas y después cada dos horas hasta 24 horas, y 30 horas después de la dosificación. Se recogió un volumen de sangre estimado de 252 mL para los cuatro periodos. Se dio prioridad a la determinación de la insulina glargina. Sólo se usaron muestras de reserva para la determinación de la concentración de péptido C.
 - RBC, Hb, Hct

- 35
 - Se recogió sangre venosa antes de comenzar el periodo de pinzamiento 3 y 4. Se recogieron aproximadamente 4 mL de sangre para los dos periodos.

Visita de Final de estudio (EOS)

- Hematología, Química Clínica: se recogieron aproximadamente 12 mL de sangre.
- Ensayo de β -HCG en orina (sólo para mujeres)

Volumen total de Sangre SCR - EOS:

- 40
 - En total, se recogieron aproximadamente 585 mL de sangre para cada sujeto durante el estudio entero.

Orina

Se realizaron exploraciones cualitativas de fármacos en orina en la SCR y EOS. Las exploraciones de fármacos en orina consisten en anfetaminas/metanfetaminas, barbituratos, benzodiazepinas, cannabinoides, cocaína y opiáceos.

Se realizaron análisis de orina de seguridad cualitativos con tiras reactivas en la SCR y EOS. El análisis de orina de seguridad consiste en un análisis de: pH, proteínas, glucosa, sangre, eritrocitos, leucocitos, bilirrubina, urobilinógeno, cetona, gravedad específica y nitrito.

Programa de Medición para otras Variables del Estudio

5 Se realizó un examen físico en la SCR y EOS.

Se tomó la temperatura corporal central (timpánica) en SCR, en P1 a P4 antes y después del periodo de pinzamiento, y en ESO.

10 La presión sanguínea y el ritmo cardíaco se midieron después de aproximadamente 5 minutos de reposo en posición supina, y también después de 3 minutos en posición vertical en la SCR y ESO. En P1 a P4 se registraron la presión sanguínea y el ritmo cardíaco en posición supina después de al menos 5 minutos antes de empezar los procedimientos de pinzamiento la mañana del día 1, y después de finalizar los procedimientos de pinzamiento 30 horas después de la administración de cada medicación de estudio (día 2).

15 Se registraron electrocardiogramas (estándar, de 12 derivaciones) en la SCR y ESO. En la SCR se midieron el peso corporal y la altura. El peso corporal se registró la mañana del Día 1 de P1 a P4 (antes de la administración de la medicación estudio) y en ESO.

La exploración de alcohol (etanol, analizador en el aliento) se realizó en la SCR y EOS, y la mañana del Día 1 de P1 a P4 (antes de la administración de la medicación de estudio).

Restricción (Restricciones) del Estudio

20 Desde el Día -1 por la tarde (P1 a P4) y a lo largo de todos los Periodos (días de pinzamiento), los sujetos no podían beber alcohol, té, café, cítricos o bebidas de cola, ni fumar. También se prohibió comer frutos cítricos a lo largo del estudio. Se pidió a los sujetos que siguieran un estilo de vida estable a lo largo de la duración del ensayo, hasta el último control, sin actividad física intensa.

Definición de los datos fuente

25 Todas las evaluaciones indicadas a continuación que se presentan en el CRF se confirmaron por documentación fuente identificada firmada de manera apropiada, relacionada con:

- identificación del sujeto, historia médica;
- examen clínico, signos vitales, peso corporal y altura;
- evaluaciones de laboratorio, ECG;
- puntos de tiempo farmacocinéticos;
- 30 • fechas y horas de visitas y evaluaciones;
- fechas y horas de administración y sitio de inyección;
- AE;
- duración de pinzamiento (horas de inicio y finalización)
- Otros

35 El CRF se consideró documentación fuerte para otros puntos.

Ejemplo 6: Consideraciones estadísticas

Este ejemplo proporciona información del plan de análisis estadístico del estudio. Se trazó un plan de análisis estadístico antes de la inclusión de los sujetos.

Determinación del tamaño de la muestra

40 El parámetro primario para el cual se realizó el cálculo del tamaño de la muestra fue $INS-AUC_{(0-24h)}$.

Para este cálculo de tamaño de la muestra, se consideraron varias SD_{dentro} dentro del sujeto de $INS-AUC_{(0-24h)}$ transformado en logaritmo natural entre 0,125 y 0,225. Se usó método de cálculo del tamaño de la muestra para una estrategia de bioequivalencia media para un diseño cruzado de 4 periodos, 2 tratamientos, 2 secuencias. Si el valor de IC 90% para la relación de formulación estaba contenido totalmente dentro de [0,80-1,25], entonces se concluyó bioequivalencia para el parámetro.

45

El HOE901/1022 del estudio fue la base para las suposiciones de variabilidad. Basándose en el análisis estadístico del HOE901/1022 del estudio, podía esperarse un valor de 0,175 para la desviación típica dentro del sujeto (SD_{dentro}) en la escala transformada en logaritmos naturales.

- 5 La tabla presentada a continuación indica el número de sujetos necesario para demostrar bioequivalencia media de la relación de medias geométricas ajustadas (formulación de ensayo frente a referencia) usando el intervalo de referencia de bioequivalencia: [0,80-1,25], suponiendo una relación verdadera entre 0,85 y 1,15 con una potencia de 90%.

Tabla 2 - Número total requerido de sujetos para conseguir una potencia de al menos 90%

	SD (dentro) a escala logarítmica natural				
	0,125	0,15	0,175	0,2	0,225
Relación verdadera supuesta	N	N	N	N	N
0,85	38	54	72	94	120
0,90	12	16	20	26	32
0,95	6	8	10	14	16
1,00	6	6	8	10	12
1,05	6	8	10	12	16
1,10	10	14	18	22	28
1,15	20	30	40	50	64

N = número total de sujetos

- 10 Con este diseño, se requieren 20 sujetos (10 por secuencia) para demostrar la equivalencia de las dos formulaciones de insulina glargina, con una potencia de 90%, permitiendo una relación verdadera de 0,9, si el valor de SD_{dentro} verdadera en la escala logarítmica natural es 0,175.

Un número de 24 sujetos aleatorizados responde de los posibles casos de abandono.

Descripción de los sujetos

Disposición de Sujetos

- 15 Se ha generado un resumen detallado de la contabilidad de los sujetos, incluyendo el número de sujetos incluidos, aleatorizados, expuestos (es decir, que recibieron cualquier cantidad de medicación de estudio), que completaron el estudio (es decir, sujetos que completaron todos los periodos de tratamiento del estudio), y que interrumpieron el tratamiento, junto con las razones principales de la interrupción, para cada secuencia y para todos los sujetos en total.

- 20 La disposición de sujetos en la visita final se presentó en una lista que incluía el grupo de secuencia, estado de disposición al final del estudio con la fecha de la última administración del fármaco de estudio, fecha de la visita final y razón para la interrupción. Todos los abandonos del estudio, que tuvieron lugar en o después del inicio de la administración de primer fármaco de estudio, se documentaron completamente en el cuerpo del informe de estudio clínico (CSR).

Desviaciones del Protocolo

- 25 Antes del cierre de la base de datos, se examinó el cumplimiento del protocolo con respecto a los criterios de inclusión y exclusión, cumplimiento del tratamiento, terapias prohibidas y tiempo y disponibilidad de evaluaciones planeadas. Las desviaciones del protocolo se identificaron por el equipo de estudio antes de cerrar la base de datos y se presentaron en el Informe de Revisión de Datos, incluyendo los datos que faltan y las interrupciones del IP, y se clasificaron como desviaciones minoritarias o importantes.

Se presentaron las desviaciones individuales en los criterios de inclusión y exclusión presentadas por el Investigador.

- 30 Otras desviaciones se presentaron y/o se describieron en el cuerpo del CSR.

Población de Análisis

Población a analizar

Se presentaron los sujetos excluidos de cualquier población de análisis con secuencia de tratamiento, y con razón de la exclusión. Cualquier información relevante se documentó con detalle en el CSR.

- 5 En caso de sujetos que recibieron tratamientos que diferían de los asignados de acuerdo con el programa de aleatorización, se realizaron análisis de acuerdo con el tratamiento recibido en lugar de análisis de acuerdo con el tratamiento aleatorizado.

Población Farmacocinética

- 10 Todos los sujetos sin ninguna desviación importante relacionada con la administración del fármaco de estudio, y para los que se disponía de parámetros PK, se incluyeron en la población farmacocinética. En el caso de sujetos con perfiles PK insuficientes en algunos pero no todos los días de estudio, se incluyeron en el análisis parámetros de los perfiles suficientes.

Población Farmacodinámica

- 15 Todos los sujetos sin ninguna desviación importante relacionada con la administración del fármaco de estudio, y para los que se disponía de parámetros PD, se incluyeron en la población farmacodinámica. En el caso de sujetos con perfiles de GIR insuficientes en algunos pero no todos los días del estudio, se incluyeron en el análisis parámetros de los perfiles suficientes.

Población de Seguridad

La evaluación de seguridad se basó en sujetos que recibieron una dosis de fármaco de estudio (población expuesta), independientemente de la cantidad de tratamiento administrado, incluyendo los sujetos que abandonaron prematuramente.

- 20 Características demográficas y basales

Características Demográficas del Sujeto, Historia Médica y Diagnóstico

Se recogieron los siguientes datos: sexo, edad en la selección, altura, peso y raza. El índice de masa corporal (IMC) por sujeto se calculó a partir de los datos de peso corporal y altura:

$$\text{IMC} = \text{peso corporal [kg]} / (\text{altura [m]})^2$$

- 25 Se presentaron individualmente y se resumieron todas las variables en relación con las características demográficas y de fondo.

Se presentaron y se describieron individualmente las desviaciones de los criterios de inclusión relacionados con la historia médica y el diagnóstico.

Parámetros Farmacodinámicos Basales

- 30 Los niveles de glucosa en sangre basales se resumieron por secuencia

Parámetros de Seguridad Basales

- 35 Para las variables de seguridad, se tomó el último valor programado antes de la administración del fármaco de estudio dentro del periodo o dentro del estudio, lo que sea aplicable para la variable, como valor basal. Si el valor previo a la dosificación basal se vuelve a comprobar antes de la dosificación, el valor que se ha vuelto a comprobar se considera el basal y se usa en los cálculos estadísticos.

Grado de exposición al tratamiento de estudio y cumplimiento

Los detalles de la dosificación de fármaco de estudio y la información complementaria se presentaron individualmente y se resumieron cuando fue apropiado.

Medicación/Terapia previa/concomitante

- 40 Las medicaciones/terapias (si las había) previas y concomitantes se codificaron de acuerdo con la Lista de Referencia de Fármacos de la Organización Mundial de la Salud (WHO-DRL) y se presentaron individualmente

Análisis de variables farmacodinámicas

Descripción de Variable(s) Farmacodinámica(s)

- 45 Para conseguir comparabilidad entre los sujetos bajo la dosificación de insulina dependiente del peso corporal, todos los valores para GIR se dividieron por el peso corporal del sujeto en kg para el análisis. De esta manera, la GIR en lo sucesivo siempre hace referencia a la velocidad de infusión de glucosa estandarizada para el peso corporal.

La variable PD primaria fue:

- El área bajo la curva de infusión de glucosa estandarizada para el peso corporal frente al tiempo [GIR-AUC_(0-24h) (mg·kg⁻¹)]

La variable PD secundaria fue:

- 5 • Tiempo (h) hasta 50% de GIR-AUC_(0-24h) [T^{50%} - GIR-AUC_(0-24h) (h)]

Se obtuvieron las siguientes variables PD adicionales:

- 10 • Área bajo la curva de velocidad de infusión de glucosa estandarizada para el peso corporal frente al tiempo hasta el final del pinzamiento [GIR-AUC_(0-final) (mg·kg⁻¹)]
- Áreas fraccionales bajo la curva de velocidad de infusión de glucosa estandarizada para el peso corporal frente al tiempo
[GIR-AUC_(4-20h), GIR-AUC_(0-12h), GIR-AUC_(12-24h) (mg·kg⁻¹)]
- Velocidad de infusión de glucosa estandarizada para el peso corporal máxima [GIR_{máx.} (mg·kg⁻¹·min⁻¹)]
- Tiempo hasta GIR_{máx.} [GIR-t_{máx.} (h)]

- 15 Para proporcionar datos significativos y fiables, el valor para GIR_{máx.} y, de forma correspondiente, el tiempo hasta GIR_{máx.} se obtuvieron a partir de una curva de GIR suavizada para cada sujeto.

Análisis Primario

Para estimar la bioeficacia (actividad) relativa para GIR-AUC_(0-24h) (mg·kg⁻¹), el parámetro no transformado se analizó con un modelo lineal de efectos mixtos.

- 20 El modelo mixto incluye términos fijos para la secuencia, periodo, formulación y términos aleatorios para sujeto dentro de la secuencia, con varianzas específicas de formulación entre sujetos y dentro del sujeto y varianza del sujeto por formulación. Después se obtuvo la estimación puntual y el intervalo de confianza de 90% para la relación de formulación (T/R) basándose en el teorema de Fieller [Fieller, 1954].

Se concluyó una bioeficacia (actividad) equivalente si el intervalo de confianza para la relación de formulación estaba situado dentro de [0,80-1,25].

- 25 Se comprobaron las suposiciones para la distribución de la variable.

Análisis secundario/Análisis de Variables Secundarias

Se representaron los perfiles de GIR estandarizada para el peso corporal medio e individual así como los perfiles acumulativos medios en porcentaje a lo largo del tiempo.

Los parámetros PD se presentaron individualmente y se generaron parámetros estadísticos descriptivos.

- 30 Se obtuvieron relaciones de formulación (T/R) con límites de confianza para GIR-AUC (mg·kg⁻¹) fraccionales y velocidad de infusión de glucosa estandarizada máxima [GIR_{máx.} (mg·kg⁻¹·min⁻¹)] usando el modelo lineal de efectos mixtos como se describe para el análisis primario.

El tiempo hasta 50%-GIR-AUC (h) y el tiempo hasta GIR_{máx.} [GIR-t_{máx.} (h)] se analizaron de forma no paramétrica.

Realización del Pinzamiento

- 35 Se representaron perfiles individuales de la concentración de glucosa en sangre.

Análisis de Datos de Seguridad

Todos los resúmenes de datos de seguridad se basaron en la población de seguridad.

La fase en tratamiento individual para el análisis de los datos de seguridad empezó con la primera administración de la medicación de estudio y terminó con la visita EOS.

- 40 Acontecimientos Adversos

Todos los AE se codificaron usando MedDRA (versión en uso).

Definiciones

Tratamiento de AE emergentes

Todos los AE se clasificaron como se indica a continuación:

- 5 • AE emergentes del tratamiento (TEAE): AE que se produjeron durante el periodo con tratamiento por primera vez o empeoraron durante el periodo con tratamiento, si se habían presentado previamente;
- AE no emergentes del tratamiento (NTEAE): AE que se produjeron fuera del periodo con tratamiento sin empeorar durante el periodo con tratamiento;

Asignación a Formulaciones

- 10 Para el análisis, cada TEAE se asignó a la última formulación administrada antes del inicio y/o empeoramiento del AE. Si un TEAE se desarrolla con una formulación y empeora con una formulación posterior, se considera un TEAE para las dos formulaciones.

Información que Falta

En caso de que falte información o se tenga una información incoherente, un AE se cuenta como un TEAE, a menos que pueda descartarse claramente que no es un TEAE (por ejemplo, por fechas parciales u otra información).

- 15 Si la fecha de inicio de un AE es incompleta o falta, se supone que se ha producido después de la primera administración de la medicación de estudio excepto si una fecha incompleta indica que el AE empezó antes del tratamiento.

Acontecimientos Adversos Emergentes del Tratamiento

- 20 Todos los AE se presentaron de forma individual. Se resumieron por formulación, incluido el resumen por grupo sistémico.

Muertes, Acontecimientos Adversos Graves y Otros Acontecimientos Adversos Significativos

Cuando se produjo cualquiera de estos casos, muertes, AE graves y otros AE significativos, se presentó individualmente y se describió con detalle en el informe de estudio.

Acontecimientos Adversos que Conducen a la Interrupción del Tratamiento

- 25 Los AE que condujeron a la interrupción del tratamiento se presentaron individualmente y se describieron con detalle en el informe de estudio.

Evaluaciones de Laboratorio Clínico

- 30 En el plan de análisis estadístico de este estudio se definieron las anomalías clínicamente significativas potencialmente (PCSA) y criterios de fuera de intervalo. Las definiciones de anomalías clínicamente significativas potencialmente (PCSA) y de fuera de intervalo se presentaron por parámetro.

Se presentan los datos individuales por sujeto y por visita, así como la información complementaria.

Los sujetos con valores fuera de los intervalos normales y los sujetos con PCSA se analizaron por formulación, y en general para el final de la evaluación del estudio. Se presentaron los sujetos con PCSA posteriores al punto basal.

Signos Vitales

- 35 En el plan de análisis estadístico de este estudio se definieron las anomalías clínicamente significativas potencialmente (PCSA) y los criterios de fuera de intervalo. Las definiciones de PCSA y las definiciones de fuera de intervalo se presentaron por parámetro.

Los sujetos con PCSA se analizaron por formulación, y en general para el final de la evaluación del estudio. Se presentaron los sujetos con PCSA posteriores al punto basal.

- 40 Los valores de partida y los parámetros derivados se resumieron por formulación, y en general para el final de la evaluación del estudio. Los datos individuales se presentaron por sujeto y por visita con marcas para anomalías, así como información complementaria.

ECG

- 45 En el plan de análisis estadístico de este estudio se definieron las anomalías clínicamente significativas potencialmente (PCSA) y los criterios de fuera de intervalo. Las definiciones de PCSA y las definiciones de fuera de intervalo se

presentaron por parámetro.

Se analizaron en general los sujetos con PCSA al final del estudio. Se presentaron sujetos con PCSA posteriores al punto basal.

5 Los valores de partida y los parámetros derivados en la SCR y en EOS se resumieron en general. Los datos individuales se presentaron por sujeto y por visita con marcas para anomalías, así como información complementaria.

Análisis de datos farmacocinéticos

Parámetros Farmacocinéticos

Se usaron los tiempos relativos reales para obtener parámetros PK

La variable primaria fue

- 10 • $\text{INS-AUC}_{(0-24h)} \cdot (\mu\text{U} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1})$

La variable PK secundaria fue

- Tiempo (h) hasta 50% de $\text{INS-AUC}_{(0-24h)}$ [$T_{50\%} - \text{INS-AUC}_{(0-24h)}$ (h)]

Se obtuvieron las siguientes variables PK adicionales:

- 15 • INS-AUC fraccional [$\text{INS-AUC}_{(4-20h)}$, $\text{INS-AUC}_{(0-12h)}$, $\text{INS-AUC}_{(12-24h)}$ ($\mu\text{U} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$)]
 • INS-AUC hasta el final de pinzamiento [$\text{INS-AUC}_{(0-\text{final})}$ ($\mu\text{U} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$)]
 • Concentración máxima de insulina en suero [$\text{INS-C}_{\text{máx}}$ ($\mu\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)]
 • Tiempo hasta $\text{INS-C}_{\text{máx}}$ [$\text{INS-T}_{\text{máx}}$ (h)]

Análisis Estadístico

Análisis Descriptivo

20 Se presentaron parámetros estadísticos descriptivos de datos de concentración por tiempos de protocolo.

Se representaron perfiles de concentración de insulina en suero individuales y medios.

Se presentaron individualmente las concentraciones de insulina en suero y se generaron parámetros estadísticos descriptivos por punto de tiempo.

Se generaron parámetros estadísticos descriptivos de parámetros PK por formulación.

25 Se representaron perfiles de péptido C y se caracterizaron descriptivamente.

Análisis Primario

Para estimar la biodisponibilidad relativa para $\text{INS-AUC}_{(0-24h)}$, el parámetro transformado en logaritmo se analizó con un modelo lineal de efectos mixtos.

30 El modelo mixto incluía términos fijos para secuencia, periodo, formulación y términos aleatorios para sujeto dentro de secuencia, con varianzas específicas de la formulación entre sujetos y dentro del sujeto y varianza de sujeto por formulación.

35 Para $\text{INS-AUC}_{(0-24h)}$, se obtuvieron estimaciones puntuales e intervalos de confianza de 90% para la relación de formulación (T/R) calculando estimaciones e intervalos de confianza de 90% para la diferencia entre medias de formulación dentro del marco del modelo de efectos mixtos, y después convirtiéndolos en la escala de relación por la transformación antilogarítmica.

Se concluye biodisponibilidad equivalente si el intervalo de confianza para la relación de formulación está situado dentro de [0,80-1,25].

Análisis de Parámetros PK Secundarios y Adicionales

40 El tiempo hasta 50%- INS-AUC (h) y el tiempo hasta la concentración máxima [$\text{INS-T}_{\text{máx}}$ (h)] se analizaron de forma no paramétrica.

Los valores de INS-AUC fraccional transformados en logaritmos e $\text{INS-AUC}_{(0-\text{final})}$ ($\mu\text{U} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$) y la concentración

máxima en suero de insulina glargina [$\text{INS-C}_{\text{máx.}}$ ($\mu\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)] se analizaron con el modelo lineal de efectos mixtos correspondiente descrito para el análisis primario. Se presentaron estimadores puntuales e intervalos de confianza.

Péptido C

Cuando estaban disponibles, se representaron los perfiles de péptido C y se caracterizaron de forma descriptiva.

5 Análisis PK/PD

Los análisis PK/PD se realizaron de una forma explorativa, cuando era apropiado.

Ejemplo 6: Resultados del Estudio

Disposición de Sujetos

- 10 Se seleccionó un total de 35 sujetos, 11 mujeres y 24 hombres, de los que se incluyeron 24 sujetos elegibles sanos, se aleatorizaron y recibieron al menos una dosis de medicación de estudio. De los 24 sujetos aleatorizados, un sujeto abandonó el estudio por petición propia después del periodo de tratamiento de la primera dosis. Veintitrés (23) sujetos completaron el estudio de acuerdo con el protocolo y se incluyeron en los análisis farmacodinámico (PD) y farmacocinético (PK). Los 24 sujetos tratados se incluyeron en la evaluación de seguridad.

No hubo desviaciones importantes del protocolo.

15 Características demográficas

Se recogieron los siguientes datos, sexo, edad en la selección, altura, peso y raza. Se calcularon los índices de masa corporal (IMC) por sujeto a partir del peso corporal y la altura: $\text{IMC} = \text{peso corporal [kg]} \cdot (\text{altura [m]})^{-2}$.

Tabla 3 - Resumen de las Características del Sujeto - Población de Seguridad

	Parámetro Estadístico/ Categoría	Sexo		Todos (N=24)
		Hombre (N=17)	Mujer (N=7)	
Edad (años)	N	17	7	24
	Media (SD)	34,8 (6,4)	39,1 (5,6)	36,1 (6,3)
	(Mín , Máx.)	(25 , 45)	(32 , 45)	(25 , 45)
Peso (kg)	N	17	7	24
	Media (SD)	80,25 (10,42)	64,17 (5,70)	75,56 (11,82)
	(Mín , Máx.)	(65,9 , 101,2)	(57,6 , 74,2)	(57,6 , 101,2)
Altura (cm)	N	17	7	24
	Media (SD)	180,6 (6,0)	166,3 (5,1)	176,4 (8,7)
	(Mín , Máx.)	(171 , 189)	(158 , 174)	(158 , 189)
IMC (kg/m^2)	N	17	7	24
	Media (SD)	24,55 (2,40)	23,19 (1,55)	24,15 (2,24)
	(Mín , Máx.)	(20,5 , 28,3)	(21,4 , 24,6)	(20,5 , 28,3)
Raza [n (%)]	Negro	1 (5,9)	0 (0)	1 (4,2)
	Caucásico/Blanco	16 (94,1)	7 (100)	23 (95,8)

Realización de pinzamiento

- 20 Los dos grupos de tratamiento, Lantus U 100 y Lantus U 300, fueron similares con respecto a las concentraciones de glucosa en sangre basales en ayunas de los individuos, que sirvieron para definir el nivel de pinzamiento de glucosa de los individuos. La duración de los pinzamientos después de la dosificación fue de 30 horas e igual en todos los periodos de tratamiento.

Criterios de valoración primarios

No se estableció equivalencia en biodisponibilidad (exposición) para Lantus U 100 y Lantus U 300. No se estableció equivalencia en bioeficacia (actividad) para Lantus U 100 y Lantus U 300.

Variables primarias

- 5 El área bajo la curva de concentración en suero de insulina glargina frente al tiempo de 0 a 24 horas ($INS-AUC_{(0-24h)}$) no fue equivalente para Lantus U 100 y Lantus U 300. La exposición fue aproximadamente 40% menor con U300. El área bajo la curva de GIR frente al tiempo de 0 a 24 horas ($GIR-AUC_{(0-24h)}$) no fue equivalente para Lantus U 100 y Lantus U 300. La actividad fue aproximadamente 40% menor con U300.

Variables secundarias

- 10 El tiempo hasta 50% de $INS-AUC_{(0-24h)}$ (h) fue similar para Lantus U 100 y Lantus U 300. El tiempo hasta 50% de $GIR-AUC_{(0-24h)}$ (h) fue mayor en 0,545 (h) (0,158 - 1,030) para Lantus U 300, lo cual fue estadísticamente significativo.

Seguridad

- 15 No se notificaron acontecimientos adversos (AE) graves. Cinco (5) sujetos por tratamiento (ensayo y referencia) notificaron un total de 14 TEAE, de los cuales todos fueron de intensidad leve a moderada, y se resolvieron sin secuelas. El acontecimiento notificado con más frecuencia fue dolor de cabeza (4 sujetos por tratamiento) seguido de náuseas, vómitos y pirexia (un sujeto cada uno con U 100), y dolor asociado con el procedimiento (1 sujeto con U 300). Es digno de mención que el dolor de cabeza es una observación común para los estudios de pinzamiento y está relacionado con la infusión de soluciones de glucosa hiperosmolares. Sin embargo, no puede excluirse una asociación con los productos de investigación. No se notificó ninguna reacción en el sitio de inyección.

Conclusiones

- 20 La insulina glargina U 100 y la insulina glargina U 300 no son equivalentes en biodisponibilidad (exposición) y bioeficacia (actividad). La exposición y la actividad de la insulina glargina U300 fueron aproximadamente 40% menores que la exposición y actividad después de la administración de la misma cantidad (0,4 U/kg) de insulina glargina U100.
- 25 Sin embargo, la insulina glargina U300 mostró un perfil de PK (exposición) y PC (actividad) incluso más plano que la insulina glargina U100, como sería deseable para una insulina basal. Estas diferencias sorprendentes e inesperadas en exposición y actividad entre las formulaciones de insulina glargina U100 e insulina glargina U300 después de la misma dosis s.c. en sujetos sanos se mostraron eficazmente en las figuras proporcionadas a continuación. Es digno de mención que al mismo tiempo la glucosa en sangre era constante.

La administración de insulina glargina U 300 carecía de problemas de seguridad y tolerancia.

- 30 Ejemplo 7: Fundamento del estudio para el estudio que compara la actividad glucodinámica y la exposición de tres dosis subcutáneas diferentes de insulina glargina U300.

- 35 Los resultados del estudio en sujetos sanos (véanse los ejemplos 1 - 6) mostraron la falta de equivalencia en exposición y eficacia entre Lantus® U100 e insulina glargina U300. Los sujetos recibieron la misma dosis de insulina glargina (0,4 U/kg) para U100 y U300, pero la liberación de la misma unidad-cantidad de U300 produjo aproximadamente 40% menos de exposición y efecto que la liberación a partir de U100. La insulina glargina U300, sin embargo, mostró un perfil farmacodinámico incluso más plano que Lantus® U100, como se desearía para una insulina basal.

- 40 Por lo tanto, un nuevo estudio descrito en los siguientes ejemplos compara la actividad glucodinámica y la exposición de tres dosis subcutáneas diferentes de insulina glargina U300 frente a una dosis convencional de Lantus® U100 como comparador en una situación de pinzamiento euglucémico con pacientes con diabetes de tipo 1. Este estudio pretende aproximar una dosis de U300 que es equieficaz a 0,4 U/kg de Lantus® U100 según se evalúa por parámetros de la disposición de glucosa en sangre proporcionada por la técnica de pinzamiento.

La exposición a insulina glargina se evalúa a partir de perfiles de concentración-tiempo después de la administración subcutánea y actividad como utilización de glucosa por unidad de insulina.

- 45 El estudio está diseñado para evaluar el efecto metabólico y la exposición de diferentes dosis de insulina glargina U300 en comparación con una dosis convencional de Lantus® U100 en una situación de pinzamiento euglucémico en sujetos con diabetes mellitus de tipo 1. El estudio comprende 4 tratamientos (R, T₁, T₂ y T₃), 4 periodos de tratamiento (TP1-4) y 4 secuencias. Hay una visita de selección (D-28 a D-3), 4 visitas de tratamiento (D1 a D2 en TP1 a TP4) y una visita de final de estudio (entre D5 a D14 después de la última dosificación) con una evaluación final de los parámetros de seguridad.
- 50

Los sujetos se exponen a cada tratamiento R, T₁, T₂ y T₃ una vez de una manera aleatoria, doble ciego, cruzada, de acuerdo con el diseño cuadrado latino. Este diseño se considera apropiado para evaluar el efecto farmacológico y la

exposición de diferentes dosis de insulina glargina U300 en comparación con Lantus® U100.

La dosis de Lantus® U100 de 0,4 U/kg seleccionada para el estudio está bien caracterizada para proporcionar euglucemia en pacientes con diabetes de tipo 1 y se ha investigado fácilmente en otros estudios de pinzamiento con pacientes con diabetes de tipo 1.

- 5 Se ensayan tres dosis diferentes para insulina glargina U300, 0,4, 0,6 y 0,9 U/kg. Este intervalo de dosis permite intrapolar una dosis aproximada equieficaz a 0,4 U/kg de Lantus® U100. La dosis de 0,4 U/kg de insulina glargina U300 ya se ha ensayado en voluntarios sanos (véanse los ejemplos 1 - 6) y se descubrió que era menos activa que 0,4 U/kg de Lantus® U100 dentro de un periodo de 30 horas, el final del periodo de observación predefinido. La bioactividad de 0,4 U/kg de insulina glargina U300 medida por la disposición de glucosa total fue 39,4% menor que la de la medicación de referencia (0,4 U/kg de Lantus® U100). Se esperaba que una dosis correspondientemente mayor de insulina glargina U300, por ejemplo 0,6 U/kg de insulina glargina U300, diera como resultado una actividad glucodinámica aproximadamente equivalente en comparación con 0,4 U/kg de Lantus® U100. Además, el aumento de dosis proporcional permite explorar los perfiles de exposición y efecto para la proporcionalidad de la dosis.

- 10 Un estudio en pacientes con diabetes de tipo 1 evita confundir el impacto de la insulina endógena y permite una mejor evaluación de la exposición y duración de la acción.

Además, la falta de un ensayo específico para insulina glargina fuerza a usar un ensayo que interpreta toda la insulina endógena. De esta manera, cualquier fuente añadida de insulina distinta de la insulina glargina exógena causaría de forma falsa concentraciones de insulina demasiado elevadas.

- 20 Este estudio tiene un diseño cruzado; por razones prácticas y éticas no se compararán más de 3 dosis de U300 con Lantus® U100. La evaluación de la actividad glucodinámica de productos de insulina de acción prolongada requiere una situación de pinzamiento euglucémico durante hasta 36 horas debido a la duración prolongada de la acción.

El ingrediente farmacéutico activo, insulina glargina, es el mismo en las dos formulaciones, U100 y U300. Las dosis usadas en este estudio están dentro del intervalo de uso regular. Aunque no se excluye completamente un riesgo global de hipoglucemia, se controla por la técnica de pinzamiento euglucémico.

25 Farmacodinámica

La actividad farmacodinámica de la insulina glargina se evalúa por la técnica de pinzamiento euglucémico en pacientes con diabetes de tipo 1, que es procedimiento convencional establecido para evaluar el efecto de productos de insulina administrados exógenos sobre la disposición de glucosa en sangre.

- 30 Los parámetros específicos para la evaluación de la disposición de glucosa en una situación de pinzamiento euglucémico son la velocidad de infusión de glucosa (GIR) estandarizada por peso corporal, la glucosa total dispuesta, GIR-AUC₀₋₃₆, y los tiempos hasta un porcentaje dado de GIR-AUC₀₋₃₆, tales como el tiempo hasta 50% de GIR-AUC₀₋₃₆.

Los parámetros auxiliares son GIR estandarizada por peso corporal suavizada máxima, GIR_{máx} y Tiempo hasta GIR_{máx}, GIR-T_{máx}.

- 35 La duración de la acción de la insulina glargina se obtiene a partir del tiempo entre la dosificación y desviaciones especificadas previamente por encima del nivel euglucémico (pinzamiento).

La monitorización de glucosa se realiza durante 36 horas debido a la larga duración de acción de insulina glargina después de la administración subcutánea.

Farmacocinética

- 40 Debido a la naturaleza de liberación sostenida de insulina glargina, hay una ausencia de picos pronunciados en el perfil de concentración. Por lo tanto, el tiempo hasta 50% de INS-AUC (T_{50%} INS-AUC₀₋₃₆) se calcula como una medida para la localización en el tiempo del perfil de exposición a insulina glargina, e INS-C_{máx} e INS-T_{máx} servirán como medidas adicionales.

Objetivos primarios del estudio

- 45 El objetivo primario del estudio es evaluar las relaciones de efecto metabólico de tres dosis diferentes de insulina glargina U300 frente a 0,4 U/kg de Lantus® U100.

Objetivos secundarios del estudio

- 50 Los objetivos secundarios del estudio son evaluar las relaciones de exposición de tres dosis diferentes de insulina glargina U300 frente a 0,4 U/kg de Lantus® U100, para comparar la duración de acción de diferentes dosis de insulina glargina U300 frente a 0,4 U/kg de Lantus® U100, para explorar la respuesta a la dosis y relación de exposición a la dosis de insulina glargina U300, y para evaluar la seguridad y tolerancia de insulina glargina U300 en sujetos con

diabetes de tipo 1.

Ejemplo 8: Diseño del estudio, descripción del protocolo

5 Fase I, un solo centro, doble ciego, aleatorio, cruzado (4 tratamientos, 4 periodos de tratamiento y 4 secuencias; cuadrado latino), control activo, con una duración de eliminación entre periodos de tratamiento (5-18 días, preferiblemente 7 días) en sujetos del sexo masculino y femenino con diabetes mellitus tipo 1 que reciben dosis individuales de insulina glargina a

- 0,4 U/kg de Lantus® U100 (= Referencia R)
- 0,4 U/kg de Insulina glargina U300 (= Ensayo T₁)
- 0,6 U/kg de Insulina glargina U300 (= Ensayo T₂)
- 10 • 0,9 U/kg de Insulina glargina U300 (= Ensayo T₃)

Los cuatro tratamientos R y T₁₋₃ se proporcionan de forma cruzada en cuatro periodos de tratamiento (TP 1 a TP 4) con las cuatro secuencias

- R-T₁-T₂-T₃
- T₃-R-T₁-T₂
- 15 • T₂-T₃-R-T₁
- T₁-T₂-T₃-R

asignadas aleatoriamente a los sujetos (relación 1:1:1:1).

Duración de la participación en el estudio

- Duración total del estudio para un sujeto: aproximadamente 4-11 semanas (duración mín-máx), dependiendo del periodo de eliminación, excluyendo la selección.
- Duración de cada parte del estudio para un sujeto:
 - Selección: 3 a 28 días (D-28 a D-3)
 - Periodo de Tratamiento 1 - 4: 2 días (estancia de 1 noche)
 - Eliminación 5 - 18 días (preferentemente 7 días entre dosificaciones consecutivas).
 - 25 - Visita de final de estudio: un día entre D5 y D14 después de la última administración del fármaco de estudio

Ejemplo 9: Selección de sujetos

Número de sujetos planeado: se incluirán al menos 24 sujetos para tener 20 sujetos evaluables

Criterios de inclusión

Demografía

- 30 I 01. Sujetos del sexo masculino o femenino, entre 18 y 65 años de edad, inclusive, con diabetes mellitus de tipo 1 desde hace más de un año, definida por la Asociación Americana de Diabetes (American Diabetic Association. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 1998;21:5-19)
- I 02. Dosis de insulina total < 1,2 U/kg/día
- 35 I 03. Peso corporal comprendido entre 50,0 kg y 95,0 kg inclusive si son del sexo masculino, y comprendido entre 50,0 kg y 85,0 kg inclusive si son del sexo femenino, índice de Masa Corporal comprendido entre 18,0 y 30,0 kg/m² inclusive

Estado de Salud

- I 04. Péptido C en suero negativo en ayunas (< 0,3 nmol/l)

- I 05. Glicohemoglobina (HbA1c) \leq 9,0%
- I 06. Régimen de insulina estable durante al menos los 2 meses previos al estudio (con respecto a la seguridad del sujeto y la integridad científica del estudio)
- 5 I 07. Hallazgos normales en historia médica y examen físico (sistema cardiovascular, tórax y pulmones, tiroides, abdomen, sistema nervioso, piel y mucosas y sistema musculoesquelético), a menos que el investigador considere que cualquier anomalía es clínicamente irrelevante y no interfiere con la realización del estudio (con respecto a la seguridad del sujeto y la integridad científica del estudio)
- 10 I 08. Signos vitales normales después de 10 minutos de reposo en posición supina: 95 mmHg < presión sanguínea sistólica < 140 mmHg; 45 mmHg < presión sanguínea diastólica < 90 mmHg; 40 lpm < ritmo cardíaco < 100 lpm
- I 09. ECG estándar de 12 derivaciones normal después de 10 minutos de reposo en posición supina: 120 ms < PQ < 220 ms, QRS < 120 ms, QTc \leq 440 ms si es del sexo masculino, \leq 450 ms si es del sexo femenino
- 15 I 10. Parámetros de laboratorio dentro del intervalo normal (o umbral de selección definido para el centro del Investigador), a menos que el investigador considere que una anomalía es clínicamente irrelevante para pacientes con diabetes; sin embargo, el nivel de creatinina en suero debe estar estrictamente por debajo de la norma superior de laboratorio; las enzimas hepáticas (AST, ALT) y la bilirrubina (a menos que el sujeto haya documentado síndrome de Gilbert) no deben estar por encima de 1,5 ULN

Sólo para sujetos del sexo femenino

- 20 I 11. Las mujeres en edad fértil (posmenopáusicas desde hace menos de dos años o no estériles quirúrgicamente desde hace más de 3 meses), deben tener un ensayo de embarazo de β -HCG en suero negativo en la selección y un ensayo de embarazo de β -HCG en orina negativo el Día 1 en TP1 a TP4 y deben usar un método de control de natalidad de alta eficacia, que se define como los que dan como resultado un bajo índice de fallos (es decir, menor de 1% por año) de acuerdo con la nota para las directrices sobre estudios de seguridad no clínicos para la realización de ensayos clínicos en seres humanos de productos farmacéuticos (CPMP/ICH/286/95, modificaciones). Durante el estudio entero, las mujeres en edad fértil deben usar dos métodos anticonceptivos independientes, por ejemplo, diafragma y preservativo recubierto con espermicida. El uso de un preservativo y cremas espermicidas no es suficientemente fiable.
- 25

Para mujeres posmenopáusicas desde hace menos de dos años, y no estériles quirúrgicamente desde hace más de 3 meses, se determinará el estado hormonal (FSH > 30 UI/l, estradiol < 20 pg/mL)

30 Criterios de exclusión

Historia médica y estado clínico

- 35 E 01. Cualquier historia o presencia de enfermedad cardiovascular, pulmonar, gastrointestinal, hepática, renal, metabólica (aparte de diabetes mellitus de tipo 1), hematológica neurológica, psiquiátrica, sistémica (que afecta al cuerpo en general), ocular, ginecológica (si se trata de mujeres) o infecciosa, clínicamente relevante; cualquier enfermedad infecciosa aguda o signo de enfermedad aguda
- E 02. Más de un episodio de hipoglucemia severa con ataque, coma o que requiera asistencia de otra persona durante los últimos 6 meses
- E 03. Dolores de cabeza fuertes y/o migrañas frecuentes, náuseas recurrentes y/o vómitos (más de dos veces al mes)
- 40 E 04. Pérdida de sangre (\geq 300 mL) en los 3 meses previos a la inclusión
- E 05. Hipotensión sintomática (sea cual sea la reducción de la presión sanguínea) o hipotensión postural asintomática definida por una reducción en SBP igual o mayor que 20 mmHg antes de que hayan transcurrido tres minutos cuando se cambia de la posición supina a la posición de pie
- 45 E 06. Presencia o historia de una alergia a fármacos o enfermedad alérgica clínicamente significativa de acuerdo con el criterio del investigador
- E 07. Probabilidad de requerir tratamiento durante el periodo de estudio con fármacos no permitidos por el protocolo de estudio clínico
- E 08. Participación en un ensayo con cualquier fármaco de investigación durante los tres últimos meses
- 50 E 09. Síntomas de una enfermedad clínicamente significativa en los 3 meses previos al estudio que, de acuerdo con la opinión del investigador, podría interferir con los fines del estudio

- E 10. Presencia de abuso de drogas o alcohol (consumo de alcohol > 40 g/día)
- E 11. Fumar más de 5 cigarrillos o equivalente al día, incapaz de dejar de fumar durante el estudio
- E 12. Consumo excesivo de bebidas con base de xantina (> 4 copas o vasos / día)
- E 13. Si es mujer, embarazo (definido como ensayo de β -HCG positivo), periodo de lactancia

5 Sustancias que interfieren

- E 14. Cualquier medicación (incluyendo hierba de San Juan) en los 14 días previos a la inclusión, o dentro de 5 veces la vida media de eliminación o vida media farmacodinámica de ese fármaco, lo que tenga mayor duración, y uso regular de cualquier medicación distinta de insulina en el último mes antes del inicio del estudio con la excepción de hormonas tiroideas, fármacos para reducir los lípidos y antihipertensores y, si se trata de mujeres, con la excepción de anticonceptivos hormonales o una terapia de sustitución de hormonas para la menopausia; cualquier vacunación dentro de los últimos 28 días

Condiciones Generales

- E 15. Sujetos que, a criterio del investigador, probablemente no cumplan el tratamiento durante el estudio, o incapaces de cooperar debido a un problema del lenguaje o un desarrollo mental deficiente
- 15 E 16. Sujetos en periodo de exclusión de un estudio previo de acuerdo con la normativa aplicable
- E 17. Sujetos con los que no pueda contactarse en caso de emergencia
- E 18. El sujeto es el investigador o cualquier sub-investigador, ayudante de investigación, farmacéutico, coordinador del estudio u otros miembro del personal, implicado directamente en la realización del protocolo

Estado Biológico

- 20 E 19. Reacción positiva a cualquiera de los siguientes ensayos: Antígeno de superficie de hepatitis B (Ag HBs), anticuerpos anti-núcleo de hepatitis B (Ab anti-HBc) si el compuesto tiene posibles actividades inmunes, anticuerpos anti-virus de la hepatitis C (anti-VHC2), anticuerpos anti-virus de la inmunodeficiencia humana 1 y 2 (Ab anti-VIH1 y anti VIH2)
- 25 E 20. Resultados positivos en la exploración de drogas en orina (anfetaminas/metanfetaminas, barbituratos, benzodiazepinas, cannabinoides, cocaína, opiáceos)
- E 21. Ensayo de alcohol positivo

Específico para el estudio

- E 22. Hipersensibilidad conocida a insulina glargina y excipientes
- 30 E 23. Cualquier historia o presencia de trombosis de venas profundas en las piernas o una aparición frecuente de trombosis de venas profundas en las piernas en parientes de primer grado (padres, hermanos o hijos)

Ejemplo 10: Tratamientos

Producto de investigación

- Insulina glargina

Se usan dos formulaciones diferentes de insulina glargina:

- 35 - Solución Lantus® U100 para inyección que contiene 100 U/mL de insulina glargina (producto comercializado)
- Solución de insulina glargina U300 para inyección que contiene 300 U/mL de insulina glargina

- Dosis:

- Lantus® U100: 0,4 U/kg (= Referencia R)
- 40 - Insulina glargina U300: 0,4, 0,6 y 0,9 U/kg (=Ensayo T₁-T₃)

- Recipiente: cartuchos de vidrio de 3 ml

- Vía de aplicación: Vía subcutánea horizontalmente a 5 cm a la derecha e izquierda del ombligo

- Condiciones: En ayunas
- Duración del tratamiento: 1 día en cada periodo, una sola dosis
- Inicio: 09:00 el Día 1 (D1) en Periodos de Tratamiento 1 a 4 (TP1-4)
- Se proporcionan tratamientos adicionales para 100% de los sujetos incluidos

5

Tabla 4 – Tratamientos

Tratamiento de Referencia		Tratamiento de ensayo, insulina glargina U300
Lantus® U100		
DCI	Insulina glargina (análogo de insulina humana recombinante)	Insulina glargina (análogo de insulina humana recombinante)
Formulación	Cartuchos para 3 mL de solución de U100	Cartuchos para 3 mL de solución U300
	1 mL contiene:	1 mL contiene:
	3,637 mg de 21A-Gly-30Ba-L-Arg-30Bb-L-Arg insulina humana [equimolar a 100 UI de insulina humana]	10,913 mg de 21A-Gly-30Ba-L-Arg-30Bb-L-Arg insulina humana [equimolar a 300 UI de insulina humana]
	30 µg de cinc	90 µg de cinc
	2,7 mg de m-cresol	2,7 mg de m-cresol
	20 mg de glicerol 85%	20 mg de glicerol 85%
	HCl y NaOH, pH 4,0	HCl y NaOH, pH 4,0
	gravedad específica 1,004 g/mL	gravedad específica 1,006 g/mL
Dosis	0,4 U/kg	<ul style="list-style-type: none"> • 0,4 U/kg • 0,6 U/kg • 0,9 U/kg
Fabricante	sanofi-aventis Deutschland GmbH	sanofi-aventis Recherche & Development, Montpellier, France
Número de lote	formulación comercial adquirida a través de CRO	Tbd
DCI = denominación común internacional		

Dosificación

Éste es un estudio de una sola dosis con 4 administraciones en total de la medicación de estudio. Los sujetos se distribuyen aleatoriamente en diferentes secuencias del tratamiento de referencia y de ensayo de forma que cada sujeto recibe el tratamiento de referencia (R) y cada uno de los tratamientos de ensayo (T₁₋₃) una vez.

- 10 Las inyecciones se administran a la izquierda o derecha del ombligo, usándose los dos sitios para inyecciones separadas. Un periodo de eliminación de 5 a 18 días separa los días de dosificación consecutivos, siendo preferido un periodo de 7 días (7 días entre dosificaciones consecutivas). La duración del periodo de eliminación varía individualmente permitiendo que tanto el participante como el investigador lo ajusten a sus necesidades. Por experiencia, 5 días constituyen un periodo mínimo para la recuperación que permite un pinzamiento por semana para un participante, mientras que 18 días representan una ruptura de 3 semanas entre los días de dosificación, que permite a los sujetos la libertad de cumplir las obligaciones no relacionadas con el estudio, si es inevitable.
- 15

La administración del IP se realiza en ayunas; el sujeto continúa en ayunas a lo largo de todo el periodo de pinzamiento.

La concentración de glucosa en sangre está dentro de un intervalo de 5,5 mmol/L (100 mg/dL) \pm 20% sin ninguna

infusión de glucosa durante la última hora antes de la dosificación durante el periodo previo al pinzamiento. Cuando la glucosa en sangre se ha hecho estable durante al menos 1 hora sin ninguna infusión de glucosa, se administra el IP. La administración de IP no se realiza antes de las 09:00 por la mañana y no después de las 14:00 el Día 1 en los Periodos de Tratamiento 1 a 4. Si la glucosa en sangre no se ha estabilizado antes de las 14:00 horas, no se realiza la dosificación. La visita se termina y el sujeto se programa para una nueva visita de dosificación 1-7 días después.

Se usa un nuevo cartucho por sujeto y dosificación

La administración del IP se realiza por una persona que no está implicada de otra manera en el estudio ni forma parte del equipo del estudio en la CRO. Esta persona consigue el código aleatorio para preparar la administración del IP de acuerdo con la lista aleatoria abierta y administra las dosis a los sujetos de acuerdo con esto. La preparación y dosificación se sigue y comprueba por una segunda persona independiente. Los documentos respectivos de preparación de la dosis y secuencia de tratamiento se mantienen estrictamente confidenciales y no se desvelan a ninguna otra persona.

Cálculo de Dosis del IP (insulina glargina)

Para calcular la cantidad de insulina glargina administrada para cada sujeto, se determina el peso corporal (en kg) con un decimal y la cantidad de insulina calculada se redondea hacia arriba o hacia abajo al número entero más próximo como se muestra en los siguientes ejemplos para una dosis de 0,6 U/kg de insulina glargina:

- un sujeto con un peso corporal de 75,3 kg recibe 45 U de insulina ($75,3 \times 0,6 = 45,18$ que se redondea hacia abajo a 45);
- un sujeto con un peso corporal de 74,4 kg recibe 45 U de insulina ($74,4 \times 0,6 = 44,64$, que se redondea hacia arriba a 45).

El peso corporal registrado durante TP1 D1 se usa para el cálculo de la dosis de medicación de estudio para todos los periodos de tratamiento. La dosis de medicación de estudio no tiene que cambiarse si el peso de un sujeto cambia en una cantidad menor o igual a 2 kg entre el TP1 y uno de los TP posteriores. Si el peso corporal de un sujeto cambia más de 2 kg entre el TP1 y uno de los TP posteriores, se vuelve a calcular la dosis de medicación de estudio basándose en el peso en D1 del periodo de tratamiento respectivo.

Jeringas y agujas

Sólo se usan jeringas con agujas unidas apropiadas para administrar de forma exacta pequeñas cantidades de solución de inyección (por ejemplo, Becton Dickinson, Ref 305502, Dimensiones: 1 ML 27G 3/8 0.40x10). Las jeringas se suministran por el investigador

Otros Productos

En la Tabla 5 se describen otros productos usados durante el procedimiento de pinzamiento.

Tabla 5 - Preparación de infusión

Código de Fármaco	DCI	Formulación	Fabricante	Dosis/Vía de administración
Glucosa	Glucosa	Solución al 20% para infusión	Certificado, seleccionado por PROFIL	Infusión iv
Heparina Sódica Intramed	Heparina	Vial que contiene 5 mL de solución (5000 UI/mL)	Certificado, seleccionado por PROFIL	infusión iv
Cloruro Sódico al 0,9%	Cloruro Sódico	Solución	Certificado, seleccionado por PROFIL	infusión iv
Apidra®	Insulina glulisina	100 U/mL para inyección	sanofi-aventis	infusión iv

La solución de glucosa, la solución de cloruro sódico, la heparina y la insulina glulisina se proporcionan por el Investigador.

Solución de Glucosa: la solución de glucosa al 20% se infunde con el Biostator™ para mantener la glucosa en sangre

individual de los sujetos al nivel diana determinado. Una segunda bomba de infusión (parte del Biostator™) suministra solución de cloruro sódico al 0,9% para mantener la vía patente. En caso de que la cantidad de solución de glucosa al 20% necesite exceder la capacidad de infusión del Biostator™, se acopla una segunda bomba de infusión de glucosa.

5 Heparina: Se infunde una solución de heparina de baja dosis (10.000 Unidades de heparina/100 mL de solución salina) a través de un catéter de doble lumen. La solución de heparina se recoge junto con la sangre usada para la medición de glucosa en sangre del Biostator™ en el otro lumen del catéter y pretende prevenir la coagulación de sangre en el sistema.

10 Insulina glulisina: Se proporcionan 15 U de Apidra® [100 U/mL] en 49 mL de solución salina, a la que se añade 1 mL de la sangre del propio sujeto para prevenir la adhesión, produciendo una concentración de 0,3 U/mL, que se infunde a una velocidad individual para conseguir euglucemia.

Descripción de los métodos de diseño ciego

Los sujetos reciben cuatro tratamientos diferentes (R, T₁, T₂ y T₃) en un diseño aleatorio, ciego y cruzado.

15 Para mantener el diseño ciego, para la dispensación y administración del IP está implicada una tercera persona conocedora del tratamiento. Esta persona no está implicada de otra manera en el estudio ni es parte del equipo de estudio en la CRO, ni desvela ninguna información a nadie y garantiza el mantenimiento del diseño ciego del estudio. Esta persona consigue el código aleatorio y administra las dosis a los sujetos de acuerdo con esto. La preparación del IP y la dosificación se siguen y comprueban por una segunda persona independiente que también tiene acceso al código aleatorio pero está igualmente ligado a la confidencialidad.

Método para asignar sujetos a grupos de tratamiento

20 Los IP se administran de acuerdo con el Protocolo de Estudio Clínico únicamente a sujetos que han dado el consentimiento informado por escrito.

Los sujetos que cumplen todos los criterios de inclusión/exclusión se asignan justo antes de la administración del producto de investigación el Día 1 en el Periodo de Tratamiento 1:

25 • un número de sujeto creciente de acuerdo con el orden cronológico de inclusión en la mañana de D1 en el Periodo de Tratamiento 1. El número de sujeto de 9 dígitos consiste en 3 componentes (por ejemplo, 276 001 001, 276 001 002, 276 001 003, etc.), de los cuales los 3 primeros dígitos (276) son el número de país, los 3 dígitos centrales son el número de centro y los últimos 3 dígitos son el número creciente del sujeto dentro del centro. El número de sujeto permanece invariable y permite que el sujeto se identifique durante todo el estudio.

30 • un número de tratamiento en un orden planeado previamente que sigue la lista aleatorizada, recibiendo siempre el siguiente sujeto elegible el próximo número de tratamiento de acuerdo con la lista de aleatorización

La administración del IP está de acuerdo con la secuencia de tratamiento aleatorizada.

35 Los sujetos que abandonan el estudio conservan su número de sujeto y su número de tratamiento, si ya se han asignado. Los sujetos de reemplazo tienen un número de identificación diferente (es decir, 500 + el número del sujeto que interrumpió el estudio). Cada sujeto recibe la misma secuencia de tratamiento que el sujeto que interrumpió el ensayo.

A los sujetos que fallaron en la selección se les asigna un número diferente, por ejemplo 901, 902 (a registrar únicamente en el CRF en caso de que se produzcan AE durante el periodo de selección después de la firma del consentimiento informado).

40 Notas: La aleatorización de un sujeto se produce después de la confirmación por los Investigadores de la elegibilidad del sujeto para este estudio. Los parámetros basales son los parámetros disponibles en los momentos más próximos previos a la dosificación.

Envase y etiquetado

La solución de insulina glargina U300 se proporciona por sanofi-aventis en cajas de reagrupamiento de cartuchos de 3 mL.

45 El número respectivo del IP se envasa bajo la responsabilidad de sanofi-aventis de acuerdo con la buena práctica de fabricación y los requisitos reguladores locales y se proporciona a la CRO.

El contenido de la etiqueta está de acuerdo con las especificaciones y requisitos reguladores locales.

Lantus® U100 está disponible en el mercado y se pedirá por la CRO.

Condiciones de almacenamiento

Todo el IP se almacena en una sala cerrada apropiada bajo la responsabilidad del Investigador, y sólo debe ser accesible al personal autorizado.

El IP tiene que almacenarse a +2 °C a +8 °C, protegido de la luz y no debe congelarse.

Acceso al código de aleatorización durante el estudio

5 Para mantener el diseño ciego, una tercera persona conocedora del tratamiento es responsable de la dispensación y administración del IP. Esta persona no está implicada de otra manera en el estudio ni forma parte del equipo del estudio en la CRO, ni desvela ninguna información a nadie y garantiza el mantenimiento del estado ciego del estudio. Esta persona consigue el código aleatorio y administra las dosis a los sujetos de acuerdo con esto. La preparación del IP y la dosificación se siguen y comprueban por una segunda persona independiente que también tiene acceso al código aleatorio pero está igualmente ligada a la confidencialidad.

10 En caso de un Acontecimiento Adverso, el código no se rompe excepto en circunstancias en las que el conocimiento del Producto de Investigación sea esencial para tratar al sujeto. Para cada sujeto, el material de ruptura del código que contiene el nombre del tratamiento se suministra en sobres. Se mantiene en un sitio seguro a lo largo de todo el Ensayo Clínico. El Patrocinador recupera todo el material de ruptura del código (abierto o cerrado) al finalizar el Ensayo Clínico.

15 Si se rompe el diseño ciego, el Investigador documenta la fecha de apertura y la razón para la ruptura del código en los datos fuente.

20 El Investigador, el farmacéutico del centro clínico u otro miembro del personal que pueda almacenar y dispensar el IP es responsable de asegurar que el IP usado en el estudio se mantiene de forma segura como se especifica por el Patrocinador y de acuerdo con los requisitos reguladores aplicables.

Todo el IP se dispensa de acuerdo con el Protocolo de Ensayo Clínico y es responsabilidad del Investigador asegurar que se mantiene un registro preciso del IP distribuido y devuelto.

Tratamiento concomitante

25 Durante el estudio no se permite el uso de medicación concomitante como se especifica en el Criterio de Exclusión N° E14, con la excepción de fármacos mencionados en este documento y cuya administración se interrumpe dentro de un marco de tiempo dado (véase E14) antes de la inclusión del sujeto el Día 1 del Periodo de Tratamiento 1.

Para impedir la interferencia del tratamiento con insulina convencional de los sujetos con la medición del pinzamiento, los sujetos tienen que abstenerse de usar insulinas basales y cambiar a

- 30 • productos de insulina de acción intermedia o corta desde las 48 horas previas a la dosificación en D1 de TP1 a TP4, si se usan productos de insulina de acción prolongada, es decir Lantus® (insulina glargina), Levemir® (detemir) o insulinas ultralentas,
- insulinas de acción corta desde las 24 horas previas a la dosificación en D1 de TP1 a TP4 si usan productos de insulina de acción intermedia, es decir insulina NPH

35 La última inyección subcutánea de insulina de acción corta no debe durar más de 9 horas antes de la administración del fármaco de estudio. Los sujetos con terapia con bomba interrumpen la infusión de insulina la mañana del Día 1, al menos 6 horas antes de cada administración de IP (aproximadamente a las 03:00 asumiendo el inicio de la administración de IP a las 09:00).

40 En caso de acontecimientos adversos sintomáticos que no ponen en peligro la seguridad del sujeto (por ejemplo, dolor de cabeza), se reserva la medicación concomitante para acontecimientos adversos de intensidad fuerte o de intensidad moderada que persisten durante un periodo prolongado. En particular, se prohíbe el uso de acetaminofeno/paracetamol si hay un riesgo conocido de hepatotoxicidad, o en cuanto se produzcan anomalías de las enzimas hepáticas.

45 Sin embargo, si se requiere un tratamiento específico por cualquier razón, debe mantenerse un registro preciso en el formulario de registro apropiado, que incluye el nombre de la medicación (denominación común internacional), dosificación diaria y duración para dicho uso. Debe informarse al Patrocinador antes de que hayan transcurrido 48 horas por e-mail o fax, con la excepción del tratamiento del dolor de cabeza.

50 El tratamiento de reacciones alérgicas potenciales estará de acuerdo con las recomendaciones publicadas en otras partes de este documento (Samson HA, Munoz-Furlong A, Campbell RL et al. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report - Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. Journal of Allergy and Clinical Immunology 2006; 117(2):391-397). Dependiendo de la gravedad de la reacción alérgica, puede considerarse el tratamiento con antihistamínicos, corticosteroides y epinefrina.

Contabilidad y cumplimiento del tratamiento

• Cumplimiento de IP:

- El IP se administra bajo supervisión médica directa, y se completa un registro apropiado por la persona responsable de la dispensación y administración del IP o su delegado; no se desvela ninguna información sobre la secuencia o dosis de tratamiento y los documentos no tienen acceso a otras personas implicadas en el estudio.
- La captación del IP se confirma por resultados medibles del ensayo de fármacos

• Contabilidad de IP

- La persona responsable de dispensar y administrar el IP o su delegado cuenta el número de cartuchos que quedan en los envases devueltos, y después rellena el Formulario de Registro del Tratamiento
- El investigador registra la información sobre el día y hora de dosificación en la página o páginas apropiadas del Cuaderno de Recogida de Datos (CRF)
- El Equipo de Monitorización a cargo del estudio entonces comprueba los datos del CRF comparándolos con los formularios de contabilidad apropiados y de IP después del cierre de la base de datos (para impedir el descubrimiento del diseño ciego del estudio)

Los cartuchos usados se conservan por el investigador hasta la reconciliación completamente documentada realizada con el Patrocinador al final del estudio después del cierre de la base de datos.

Ejemplo 11: Evaluación del producto de investigación

- El presente estudio está diseñado para evaluar el efecto metabólico y las relaciones de exposición de tres dosis de insulina glargina U300 diferentes frente a 0,4 U/kg de Lantus® U100, para comparar la duración de acción de diferentes dosis de insulina glargina U300 frente a 0,4 U/kg de Lantus® U100, para explorar la respuesta a la dosis y la relación de exposición a la dosis de la insulina glargina U300, y para evaluar la seguridad y tolerancia de la insulina glargina U300 en una situación de pinzamiento euglucémico en sujetos con diabetes mellitus de tipo 1.

Farmacodinámica

25 Pinzamiento Euglucémico

El efecto farmacodinámico de la insulina glargina, principalmente la disposición de glucosa total y la duración de la acción de la insulina, se evalúa por la técnica de pinzamiento euglucémico.

- Durante el pinzamiento euglucémico, la concentración de glucosa en sangre venosa arterializada, que refleja el suministro para la utilización de glucosa total de todos los tejidos, y la velocidad de infusión de glucosa (GIR) necesaria para mantener la concentración de glucosa en sangre de un sujeto en su nivel diana (nivel de pinzamiento), se miden continuamente y se registran usando el dispositivo Biostator™ (sistema de monitorización de glucosa continuo, Life Sciences Instruments, Elkhart, IN, USA).

- La cantidad de glucosa requerida (GIR-AUC) es una medida de la captación de glucosa en los tejidos (disposición de glucosa o actividad de reducción de glucosa) mediada por el exceso de insulina exógena. El Biostator™ determina los niveles de glucosa en sangre a intervalos de 1 minuto y ajusta la velocidad de infusión de glucosa en respuesta a cambios en la glucosa en sangre usando un algoritmo predefinido.

Procedimiento de pinzamiento

Para prevenir la interferencia del tratamiento con insulina convencional de los sujetos con la medición del pinzamiento, los sujetos tienen que abstenerse de usar insulinas basales y cambiar a

- productos de insulina de acción intermedia o corta desde las 48 horas previas a la dosificación en D1 de TP1 a TP4, si usan productos de insulina de acción prolongada, es decir Lantus® (insulina glargina), Levemir® (detemir) o insulinas ultralentas,
 - insulinas de acción corta desde las 24 horas previas a la dosificación en D1 de TP1 a TP4 si usan productos de insulina de acción intermedia, es decir insulina NPH
- La última inyección subcutánea de insulina de acción corta no se realiza después de 9 horas antes de la administración del IP. Los sujetos con terapia con bomba interrumpen la infusión de insulina la mañana del Día 1, al menos 6 horas antes de cada administración de IP (aproximadamente a las 03:00 asumiendo el inicio de la administración de IP a las 09:00).

Durante los Periodos de Tratamiento 1 a 4 (TP1 - TP4), los sujetos se admiten en la clínica la mañana del D1 después de un ayuno de una noche de al menos 10 horas.

La mañana del Día 1 empieza el procedimiento previo al pinzamiento y los sujetos se conectan al Biostator™. La concentración de glucosa en sangre se ajusta a 4,4 - 6,6 mmol/L (80 - 120 mg/dL) y se mantiene dentro de estos límites por medio de administraciones iv en embolada de un análogo de insulina de acción rápida (por ejemplo, insulina glulisina) e infusiones individuales posteriores de glucosa cuando sea necesario.

60 min antes de la administración de la medicación de estudio, la glucosa en sangre se ajusta a 5,5 mmol/L (100 mg/dL) $\pm 20\%$ (nivel de pinzamiento euglucémico) sin ninguna infusión de glucosa durante la última hora antes de la dosificación. La infusión de insulina glulisina se interrumpe inmediatamente antes de la administración de la medicación de estudio.

Cuando la glucosa en sangre se ha estabilizado durante al menos 1 hora dentro de un intervalo de 5,5 mmol/L (100 mg/dL) $\pm 20\%$ sin ninguna infusión de glucosa, se administra el IP (= T0 en D1 en TP1 a TP4, aproximadamente a las 09:00). Los sujetos reciben la medicación de referencia o de ensayo (R, T₁₋₃, véase la Tabla 4) asignada por aleatorización. Las inyecciones se administran a la izquierda o derecha del ombligo.

La administración de IP no se realiza antes de las 09:00 por la mañana y no después de las 14:00 el Día 1 en los Periodos de Tratamiento 1 a 4. Si la glucosa en sangre no se estabiliza durante el pre-pinzaamiento antes de las 14:00, no se realiza la dosificación. La visita se termina y el sujeto se programa para una nueva visita de dosificación 1-7 días después.

La administración del IP se realiza en condiciones de ayuno; el sujeto continúa en ayunas a lo largo de todo el periodo de pinzamiento.

El nivel de glucosa en sangre de pinzamiento euglucémico se mantiene continuamente por medio de la infusión iv de solución de glucosa hasta que termina el pinzamiento.

El objetivo de cualquier suplemento de insulina basal es añadir o incluso sustituir la secreción de insulina endógena entre comidas. En sujetos con secreción de insulina endógena, invitados a participar en este estudio, la insulina exógena proporcionaría la cantidad de insulina necesaria para disponer de la producción de glucosa hepática. Si se hacen corresponder correctamente, no se necesita glucosa extra para compensar el exceso de insulina. La velocidad de infusión de glucosa resultante se aproxima a cero. Una vez que cesa la acción de la insulina, se eleva la concentración de glucosa en sangre. Los tiempos hasta el inicio de la elevación y los tiempos para que las concentraciones de glucosa en sangre excedan umbrales predefinidos se leen por el Biostator™.

Las dosis seleccionadas de Lantus® U100 e insulina glargina U300 están por encima de la necesidad basal media, lo cual, a su vez, produce alguna demanda de glucosa reflejada en una GIR considerable hasta 36 horas.

El parámetro correspondiente indicativo del rendimiento del pinzamiento, es decir, la precisión para mantener la glucosa en sangre al nivel basal de pinzamiento, es la variabilidad de la glucosa en sangre durante el periodo de pinzamiento. Una medida para la variabilidad de la glucosa en sangre es el coeficiente de variación (CV%) por pinzamiento individual.

Un bajo coeficiente de variación en la glucosa en sangre es un prerrequisito para evaluar de forma apropiada el efecto de la insulina en situación de pinzamiento.

El periodo de pinzamiento no debe exceder 36 horas después de la inyección de medicación de estudio, el final predefinido del pinzamiento.

Los sujetos continúan en ayunas durante todo el periodo de pinzamiento de glucosa (antes del pinzamiento y durante el pinzamiento) aunque tienen acceso a agua ad libitum.

En caso de que la glucosa en sangre pase de 11,1 mmol/L (200 mg/dL) antes del final del pinzamiento durante 30 minutos después de cesar la infusión de glucosa y el investigador confirme que se ha excluido cualquier error posible que conduzca a niveles de glucosa en sangre falsos por encima de 11,1 mmol/L (200 mg/dl), se administra insulina glulisina usada en un momento previo a la administración del IP del pinzamiento para prolongar el periodo de observación a 36 horas. En este caso, tiene que informarse al patrocinador.

Los sujetos se desconectan de la estación de pinzamiento cuando la glucosa en sangre está bien dentro del intervalo isoglucémico.

Los participantes reanudan su medicación previa al estudio el día del alta en TP1 a TP4, es decir el Día 2.

El efecto de los IP debe durar aproximadamente 24 - 36 horas, que es la causa de que los participantes permanezcan en el instituto durante 2 días.

Un periodo de eliminación de 5 a 18 días separa los días del periodo de pinzamiento consecutivos, siendo preferido

- un periodo de 7 días (7 días entre dosificaciones consecutivas). La duración del periodo de eliminación varía individualmente permitiendo que tanto el participante como el investigador lo ajusten según sus necesidades. Por experiencia, 5 días constituyen un periodo mínimo para la recuperación que permite un pinzamiento por semana para un participante, mientras que 18 días representan una ruptura de 3 semanas entre días de dosificación, que permite a los sujetos libertad para cumplir las obligaciones no relacionadas con el estudio, si es inevitable.

La selección y el D1 de TP1 no deben separarse más de 28 días, mientras que la EOS no debe realizarse antes de D5 ni después de D14 después de la última dosificación, respectivamente.

Tiempos de Muestreo Farmacodinámicos

- Se extrae continuamente sangre venosa arterializada a una velocidad de 2 mL/h para la determinación de la concentración de glucosa en sangre arterial cada minuto durante el periodo pre-pinzaamiento (previo a la administración del IP) y el periodo de pinzaamiento (hasta 36 horas después de la administración del IP).

Se recogen muestras de sangre venosa arterializada (0,2 mL) para la calibración del Biostator™ concurrente, que es un requisito técnico, al menos en intervalos desde 30 minutos después de la conexión al Biostator™ hasta 36 horas después de la medicación.

- Número de Muestras Farmacodinámicas

La glucosa sanguínea se mide continuamente durante el procedimiento de pinzaamiento. Además, se recogerán al menos 74 muestras por sujeto y periodo de tratamiento para la calibración del Biostator™ después de la administración del IP. En total se recogen 74*4*24 muestras o 7104 muestras (véase la tabla mostrada a continuación).

Tabla 6 - Número de muestras de sangre y alícuotas por sujeto durante el pinzaamiento

Periodos	Glucosa ^a	Glucosa ^b
TP1	Continuamente	74
TP2	Continuamente	74
TP3	Continuamente	74
TP4	Continuamente	74
Número total de muestras por sujeto	Continuamente	296

^a monitorización continua de glucosa a 2 mL/h para PD

^b calibración

- Procedimiento de Manipulación Farmacodinámica

Tabla 7 - Procedimientos de Manipulación de Muestras

Analito	Volumen de Muestra de Sangre	Procedimientos de Manipulación
Glucosa para PD	2 mL/h	ninguno
Glucosa para calibración	200 µL	Sangre a introducir en capilares y después en un recipiente de muestra para el análisis inmediato

Parámetros Farmacodinámicos

- Se calcula el área bajo la GIR estandarizada para el peso corporal dentro de 36 horas (GIR-AUC₀₋₃₆) y el tiempo hasta 50% de la GIR-AUC total dentro de 36 horas (T_{50%-GIR-AUC₀₋₃₆}).

La duración del control de la glucosa en sangre se toma como el tiempo en euglucemia desde la dosificación a la desviación por encima del nivel de glucosa de pinzaamiento (100 mg/dL). Los tiempos de glucosa en sangre controlada dentro de márgenes predefinidos se toman desde la dosificación hasta umbrales especificados, por ejemplo, niveles de glucosa en sangre a 110, 130 y 150 mg/dL.

Además, se evalúa la GIR corregida para el peso corporal suavizada máxima (GIR_{máx}) y el tiempo necesario para GIR_{máx}, GIR-T_{máx}.

Cuando sea apropiado se obtienen otros parámetros suplementarios.

Seguridad

5 Características demográficas basales

Las características demográficas basales consisten en:

- Edad (años)
- Peso corporal (kg)
- Altura (cm)
- Índice de Masa Corporal (IMC) (kg/m²)

Evaluación de Seguridad en el momento inicial y durante el estudio

- 15 • Examen físico en la selección: sistema cardiovascular, tórax y pulmones, tiroides, abdomen, sistema nervioso, piel y mucosa y sistema musculoesquelético e historia médica y quirúrgica relevante, historia de diabetes (diagnóstico de diabetes, inicio del tratamiento con insulina, complicaciones a largo plazo); sólo se documentan los hallazgos relevantes para el estudio.
- Hábito de fumar previo y actual
- Examen físico antes de la dosis y durante el estudio: sistema cardiovascular, abdomen y pulmones; sólo se documentan los hallazgos relevantes para el estudio.
- Temperatura corporal (aural)
- 20 • Signos vitales: ritmo cardíaco, ritmo respiratorio y presión sanguínea sistólica y diastólica medida después de 10 minutos en posición en reposo supina, ritmo cardíaco y presión sanguínea sistólica y diastólica también después de 3 minutos en posición de pie (excepto para mediciones no programadas cuando está conectado al Biostator™)

Ensayos de laboratorio (en condiciones en ayunas para muestras de sangre):

- 25 • Hematología: recuento de glóbulos rojos (RBC), hematocrito (Hct), hemoglobina (Hb), recuento de glóbulos blancos (WBC) con diferencial (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos), plaquetas, INR y aPTT.
- Bioquímica:
 - Electrolitos: sodio, potasio, bicarbonato, cloruro, calcio
 - 30 - Función hepática: AST, ALT, fosfatasa alcalina, gamma-glutamyl transferasa (γGT), bilirrubina total y conjugada
 - Función renal: creatinina, BUN
 - Metabolismo: glucosa, albúmina, proteínas totales, colesterol total, triglicéridos, HbA1c (en la selección, D1 TP1 y EOS), LDH, amilasa, lipasa, péptido C (sólo selección)
 - 35 - Toxicidad muscular potencial: creatinina fosfoquinasa (CPK)
 - Serología: antígeno de hepatitis B (Ag HBs), anticuerpos anti-núcleo de hepatitis B (Ab anti-HNc), anticuerpos anti-hepatitis C (anti-HCV2), anticuerpos anti-VIH1 y anti-VIH2.
 - Obtención de muestras de sangre: se recoge una muestra de sangre de 5 ml y se introduce en un tubo de tapa roja, seco, y se centrifuga a aproximadamente 1500 g durante 10 minutos a 4 °C; el suero después se transfiere a tres tubos de almacenamiento, que se tapan inmediatamente y se congelan en posición vertical a -20 °C. Esta muestra se usa si se produce cualquier problema de seguridad inesperado para asegurar que se dispone de un valor basal previo a la administración de fármaco para parámetros no evaluados previamente (por ejemplo, serología). Si no se usa esta muestra, el investigador la destruye después de la aprobación del Patrocinador.
 - 40
 - 45 • Análisis de orina: proteínas, glucosa, sangre, cuerpos cetónicos, pH

- Cualitativo: se realiza un ensayo con tira reactiva en una muestra obtenida recientemente para la detección cualitativa usando una tira reactiva;
 - Cuantitativa: se necesita una medición cuantitativa para el recuento de glucosa, proteínas, eritrocitos y leucocitos en caso de que el ensayo de la muestra de orina sea positivo para cualquiera de los parámetros anteriores por tira reactiva en orina (por ejemplo, para confirmar cualquier parámetro de tira reactiva positivo por una medición cuantitativa)
- 5
- Exploración de drogas en orina: anfetaminas/metanfetaminas, barbituratos, benzodiazepinas, cannabinoides, cocaína, opiáceos
 - Ensayo de alcohol en el aliento
- 10
- Ensayo de embarazo/hormonas (si se trata de mujeres):
 - ☐ -HCG en sangre en la selección
 - ☐ -HCG en orina a TP1 a TP4, Día 1
 - FSH/estradiol, si ha pasado la menopausia hace menos de 2 años, en la selección únicamente.
 - Acontecimientos adversos: espontáneos notificados por el sujeto u observados por el Investigador
- 15
- Telemetría de ECG (una sola derivación)
 - ECG de 12 derivaciones (automático)
 - Anticuerpos anti-insulina
- Se toman muestras de sangre para ensayos de laboratorio en condiciones en ayunas.

Metodología de ECG

- 20 Telemetría de ECG
- La telemetría de ECG se monitoriza continuamente por el personal médico. Todos los acontecimientos arrítmicos se documentarán por impresión y se incluirán en el CRF del sujeto. Esta documentación permite el diagnóstico del acontecimiento, el momento de aparición y la duración, y se firma por el Investigador o el delegado. El registro de telemetría de ECG se conserva para un posible análisis posterior teniendo en cuenta la exposición al Producto de Investigación.
- 25

ECG de doce derivaciones

- 30
- Se registran ECG de doce derivaciones después de al menos 10 minutos en posición supina usando un dispositivo electrocardiográfico (MAC 5500™). Los electrodos se ponen en el mismo sitio para registro de ECG a lo largo de todo el estudio (los sitios de conexión de las derivaciones se marcan con un bolígrafo indeleble).
 - Los ECG siempre se registran antes del muestreo PK (si lo hay). Se extraen muestras PK en cuanto sea posible (antes de que hayan transcurrido 15 minutos) después del ECG.
 - Cada ECG consiste en un registro de 10 segundos de las 12 derivaciones simultáneamente, que conduce a:
 - una sola impresión de ECG de 12 derivaciones (25 mm/s, 10 mm/mV) con HR, PR, QRS, QT, evaluación de corrección automática de QTc, incluyendo fecha, hora, iniciales y número del sujeto, firma del investigador y al menos 3 complejos para cada derivación. En el CRF se registra la opinión médica del Investigador y los valores automáticos. Esta impresión se conserva al nivel del centro
 - un almacenamiento digital que permite la lectura adicional final por un laboratorio central de ECG: cada archivo digital se identifica por tiempo teórico (día y hora DxxTxxHxx), fecha real y tiempo real (tiempo de grabador), código de estudio del Patrocinador, número del sujeto (es decir, 3 dígitos) y números de centro y país si es relevante.
- 35
- 40
- El registro digital, el almacenamiento de datos y la transmisión de datos (cuando se solicite) cumplen todos los requisitos reguladores aplicables (es decir, FDA 21 CFR, parte 11).

45 Cuando se programan signos vitales, ECG y muestras de sangre al mismo tiempo que la administración de un Producto de Investigación y/o una comida, se realizan antes de la administración del Producto de Investigación y/o la comida. Siempre que las mediciones de signos vitales, ECG y muestras de sangre para PK, PD o seguridad coincidan, se

respetar el siguiente orden: ECG, signos vitales, PD, PK y muestras de seguridad; para respetar la cronología exacta de las muestras PK (véase el diagrama de flujo para la ventana de tiempo para muestras PK), las otras medidas se realizan antes del tiempo programado. El programa de evaluación se adapta al diseño del estudio.

Tolerancia local en el sitio de inyección

- 5 Los hallazgos en el sitio de inyección (tales como eritema, edema, pápulas, induración, vesículas, ampollas) se califican principalmente de acuerdo con la Puntuación de Irritación Global. Una reacción en el sitio de inyección local con una puntuación de ≥ 3 de acuerdo con la escala de evaluación se documenta adicionalmente como un acontecimiento adverso.

Se pide a los sujetos que notifiquen sensaciones en el sitio de inyección.

10 Farmacocinética

Para la evaluación de la farmacocinética de la insulina glargina, se obtiene el área bajo la curva de concentración de insulina (INS-AUC) hasta 36 horas, $INS-AUC_{0-36}$ y el tiempo hasta 50% de $INS-AUC_{0-36}$. Además, se obtiene la concentración máxima de insulina $INS-C_{m\acute{a}x}$, y el tiempo hasta $C_{m\acute{a}x}$ ($INS-T_{m\acute{a}x}$).

Tiempos del Muestreo

- 15 Se recoge sangre para la determinación de las concentraciones de insulina glargina en los puntos de tiempo 0H, 1H, 2H, 4H, 6H, 8H, 12H, 16H, 20H, 24H, 28H, 32H y 36H después de la inyección de la medicación de estudio.

Número de Muestras Farmacocinéticas

Tabla 8 - Número de muestras de sangre por sujeto

Periodos	Insulina (glargina)
Periodo de Tratamiento 1	13
Periodo de Tratamiento 2	13
Periodo de Tratamiento 3	13
Periodo de Tratamiento 4	13
Número total de muestras por sujeto	52
Número total de muestras ^a	52*24 = 1248
^a suponiendo que 24 sujetos completaron el estudio	

20 Procedimiento de Manipulación Farmacocinética

El tiempo exacto de administración de IP y la recogida de muestras deben registrarse en el CRF.

Parámetros Farmacocinéticos

- 25 Se calculan los siguientes parámetros farmacocinéticos, usando métodos no compartimentales para las concentraciones de insulina glargina después de una sola dosis. Los parámetros incluyen, pero sin limitación, los siguientes.

Tabla 9 - Lista de parámetros farmacocinéticos y definiciones

Parámetros	Fármaco/Analito	Definición/Cálculo
$C_{m\acute{a}x}$	Insulina	Concentración máxima observada
$T_{m\acute{a}x}$	Insulina	Primer tiempo para alcanzar $C_{m\acute{a}x}$
AUC_{0-36}	Insulina	Área bajo la curva de concentración frente al tiempo calculada usando el método trapezoidal desde tiempo cero a 36 horas después de la dosificación
$T_{50\%-AUC}$	Insulina	Tiempo hasta 50% de AUC_{0-36}

Volumen de Sangre Muestreada

Tabla 10 - Volumen de Sangre Muestreada

Tipo	Volumen por Muestra	Número de Muestra	Total
Serología	2 mL	1	2 mL
Hematología	2,7 mL	5	13,5 mL
Coagulación	2 mL	3	6 mL
Bioquímica	5 mL	3	15 mL
Obtención de Muestra	5 mL	1	5 mL
Insulina	3 mL	13*4	156 mL
Calibración de glucosa	0,2 mL	74*4	59,2 mL
Glucosa continuamente	2 mL/h	40*4	320 mL
β-HCG (si se trata de mujeres) ^a	0 mL	1	0 mL
FSH/estradiol (si se trata de mujeres) ^{a,b}	0 mL	1	0 mL
Anticuerpos anti-insulina	3 mL	2	6 mL
Total	582,7 mL		

^a incluido en serología

^b si ha tenido la menopausia hace menos de 2 años

Medidas para proteger el diseño ciego del ensayo

- 5 Para mantener el diseño ciego, una tercera persona que conoce el tratamiento está implicada para dispensar y administrar el IP. Esta persona no está implicada de otra forma en el estudio ni forma parte del equipo de estudio en la CRO o patrocinador. Esta persona coge el código aleatorio proporcionado por sanofi-aventis y no desvela el código aleatorio ni ninguna otra información a ninguna otra persona. Por razones de seguridad, el código de aleatorización de tratamiento está descubierto para la notificación a la Autoridad Sanitaria de cualquier Reacción Adversa al Fármaco Inesperada Sospechosa (SUSAR) y asociada de forma razonable con el uso del IP de acuerdo con el criterio del
- 10 Investigador y/o el Patrocinador.

Seguridad del sujeto

El Investigador es la persona principal responsable para tomar cualquier decisión clínicamente relevante en caso de problemas de seguridad.

- 15 Si se considera necesario, debe preverse la opinión de un especialista de una manera oportuna (por ejemplo, fallo renal agudo, convulsiones, erupciones cutáneas, angioedema, paro cardíaco, modificaciones electrocardiográficas, etc.).

Ejemplo 12: Procedimientos de Estudio

Programa de Visitas

Procedimientos de Selección

- 20 Los procedimientos de selección se realizan en los 28 días hasta los 3 días previos a la inclusión para determinar la elegibilidad de los sujetos para la participación. El sujeto recibe información del investigador sobre los objetivos y procedimientos del estudio. El sujeto firma el consentimiento informado antes de cualquier acción relacionada con el estudio. El registro de acontecimientos adversos empieza posteriormente.

- 25 Antes de la selección, los sujetos han permanecido en ayunas (con la excepción de agua) durante 10 horas (excluyendo una pequeña cantidad de carbohidratos como contramedida para hipoglucemias, si es necesario).

La visita de selección incluye las siguientes investigaciones:

1. Demografía (edad, sexo, raza, hábito de fumar pasado y actual, altura, peso corporal y IMC).
 2. Examen físico (sistema cardiovascular, tórax y pulmones, tiroides, abdomen, sistema nervioso, piel y mucosas y sistema musculoesquelético) e historia médica y quirúrgica relevante, historia de diabetes (diagnóstico de diabetes, inicio del tratamiento de insulina, complicaciones a largo plazo); sólo se documentan los hallazgos relevantes para el estudio.
 3. Tratamientos previos relevantes y todos los tratamientos concomitantes, régimen medio de insulina en los últimos 2 meses antes de la entrada en el estudio.
 4. ECG (estándar, 12 derivaciones), mediciones de signos vitales (pulso, ritmo presión sanguínea sistólica y diastólica medida después de 10 minutos en posición de reposo supina, y después de 3 minutos en posición de pie) y temperatura corporal central (aural).
 5. Ensayos de laboratorio con hematología: HbA1c, péptido C, química clínica, serología, análisis de orina, exploración de drogas en orina, ensayo de alcohol en el aliento, \square -HCG y ensayo de FSH/estradiol en sangre (sólo en mujeres, si es aplicable).
- Se permite un segundo ensayo antes de que haya transcurrido una semana, siendo concluyente el resultado del último ensayo.
- Los sujetos que cumplen todos los criterios de inclusión, y ninguno de los criterios de exclusión, son elegibles para la visita de inclusión.
- En caso de fallos en la selección, los resultados básicos del examen de selección se registran en los documentos fuente.
- Procedimientos de Inclusión (Día 1 de Periodo de Tratamiento 1)**
- Los sujetos, cualificados para inclusión en el estudio, se admiten en la clínica en ayunas la mañana de D1 de TP1 aproximadamente a las 07:00.
- El examen de inclusión se realiza en el primer de dosificación (D1, TP1) e incluye las siguientes investigaciones:
- Examen físico con historia médica actualizada (AE), medicación previa/concomitante y temperatura corporal aural
 - Peso corporal, IMC (altura medida en la selección)
 - ECG (estándar, 12 derivaciones), mediciones de signos vitales (ritmo cardiaco, velocidad respiratoria, presión sanguínea sistólica y diastólica medida después de 10 minutos en posición en reposo supina, y después de 3 minutos en posición de pie)
 - Ensayos de laboratorio con hematología, química clínica, análisis de orina, exploración de fármaco en orina, ensayo de alcohol en el aliento, ensayo de \square -HCG en orina (solo mujeres, si es aplicable).
- Cada sujeto recibe un número de identificación creciente de acuerdo con el orden cronológico de su inclusión en el estudio.
- La aleatorización se realiza en D1 / TP1 después de la confirmación de la elegibilidad de los sujetos por el Investigador. Si se aleatoriza más de un sujeto al mismo tiempo, los sujetos se aleatorizan consecutivamente de acuerdo con el orden cronológico de inclusión la mañana del Día 1 / TP1, es decir, el sujeto con el menor número de sujeto recibe el siguiente número de aleatorización disponible.
- Los resultados de los ensayos de laboratorio de D1/TP1 son valores basales y se consideran confirmatorios, con la excepción del ensayo de \square -HCG en orina (basado en las muestras recogidas durante la visita de selección) que debe ser negativo.
- Si un sujeto finalmente se incluye, se toma una muestra de sangre para archivar y para determinar los anticuerpos anti-insulina (únicamente en D1/TP1).
- Descripción por tipo de visita**
- Periodos de Tratamiento 1-4 (D1 a D2)**
- Para prevenir la interferencia del tratamiento con insulina convencional de los sujetos con la medición de pinzamiento, los sujetos se abstienen de usar insulinas basales y cambiar a
- productos de insulina de acción intermedia o corta desde 48 horas antes de la dosificación en D1 de TP1 a TP4, si están usando productos de insulina de acción prolongada, es decir Lantus® (insulina glargina),

Levemir® (determir) o insulina ultralenta,

- insulinas de acción corta desde las 24 horas previas a la dosificación en D1 de TP1 a TP4 si están utilizando productos de insulina de acción intermedia, es decir, insulina NPH

5 La última inyección subcutánea de insulina de acción corta no se realiza después de 9 horas antes de la administración del IP. Los sujetos con terapia con bomba interrumpen la infusión de insulina la mañana del Día 1, al menos 6 horas antes de cada administración del IP (aproximadamente a las 03:00, asumiendo el inicio de la administración de IP a las 09:00).

10 Tras la llegada a la clínica, se pide a los sujetos que se aseguren de que no han tenido cambios clínicamente relevantes en su estado físico desde la visita previa, que han estado cumpliendo con las restricciones generales y dietéticas definidas en el protocolo y que cambiaron su tratamiento de insulina, si era necesario. La violación del criterio del estudio excluye la participación adicional del sujeto en el estudio. Dependiendo del tipo de violación, un sujeto puede excluirse sólo del día de estudio particular, permitiendo una repetición del programa del día de estudio una vez, o durante el estudio entero.

15 Cualquier cambio en el estado de salud y la medicación concomitante de los sujetos desde la última visita se presentan en los registros médicos del sujeto (fuente) y el CRF.

Por la mañana poco antes de la administración de la medicación de estudio (D1 de cada TP), se registran el peso corporal, signos vitales, ECG de 12 derivaciones, monitorización de ECG y temperatura corporal central, y se realizan un análisis de orina y una exploración de drogas y alcohol en orina.

La cantidad de insulina glargina necesaria para la inyección se calculará de acuerdo con el peso corporal del sujeto.

20 La hematología se analiza para ver si se está produciendo anemia el Día 1 del Periodo de Tratamiento 3. Si el resultado es positivo, el intervalo de eliminación entre los Periodos de Tratamiento 3 y 4 se extiende al máximo permitido de 18 días o el inicio de TP4 se pospone hasta que se hayan normalizado los parámetros hematológicos. Se realiza una evaluación hematológica adicional el Día 1 del Periodo de Tratamiento 4.

Los sujetos permanecen en ayunas (con la excepción de agua) hasta el final del pinzamiento euglucémico.

25 Después, los sujetos se preparan para el inicio del procedimiento de pre-pinzaamiento con tres vías venosas conectadas a un dispositivo de lectura de glucosa automático (Biostator™) y permanecen en posición semi-recostada durante todo el periodo de muestreo. Aproximadamente a las 07:30, se introduce una cánula en una vena dorsal de la mano o una vena lateral de la muñeca del brazo izquierdo y se conecta al Biostator™ para extraer de forma continua sangre venosa arterializada para la determinación de la concentración de glucosa en sangre. La mano izquierda se pone dentro de una caja caliente ("Hot-Box"), que proporciona una temperatura de aire de aproximadamente 55 °C, permitiendo la arterialización de la sangre venosa. Se pone una segunda vía venosa en la vena antecubital del brazo izquierdo y se usa para recoger muestras para la determinación de glucosa en sangre de referencia y para la determinación de insulina. Se introduce una cánula en una tercera vena en el antebrazo contralateral que permite la infusión de solución salina al 0,9% y solución de glucosa al 20% con una bomba en el Biostator™ o insulina glulisina con una bomba externa.

30

35

Desde la inserción de los catéteres vasculares hasta 60 min antes de la administración de la medicación de estudio a aproximadamente las 09:00 el D1, se mantiene el nivel de glucosa en sangre dentro de 4,4 a 6,6 mmol/l (80-120 mg/dl, pre-pinzaamiento). Dependiendo del nivel de glucosa en sangre, se administra una inyección intravenosa en embolada adicional de insulina glulisina para mantener la glucosa en sangre dentro del intervalo diana. En la hora previa a la administración de la medicación de estudio no se administran inyecciones intravenosas en embolada hasta que termina el pinzaamiento. Se toman muestras de sangre adicionales para la determinación de la glucosa en sangre en intervalos de al menos 30 min para comprobar frente a una referencia de laboratorio basándose en el método de glucosa oxidada. Si es necesario, el Biostator™ se recalibra de acuerdo con los resultados del método de referencia de laboratorio.

40

45 Las velocidades de infusión de insulina se ajustan de forma individual. Mientras se mantiene la glucosa en sangre al nivel diana, se minimiza tanto la velocidad de infusión de insulina como la velocidad de infusión de glucosa durante la fase preparatoria de pinzaamiento. La solución de insulina glulisina se infunde por medio de una bomba de infusión de alta precisión (Terumo Spritzenpumpe TE 311™), y la solución de glucosa al 20% se aplicará por una bomba de infusión de alta precisión (Terumo Spritzenpumpe TE 171™).

50 El nivel de pinzaamiento se ajusta 60 min antes de la administración de la medicación de estudio para mantener la glucosa en sangre aproximadamente a 5,5 mmol/L (100 mg/dL) hasta el final del periodo de pinzaamiento. El pre-pinzaamiento se prolonga y la administración de IP se pospone hasta las 14:00 en caso de que el nivel de glucosa diana no se haya conseguido durante la fase preparatoria (pre-pinzaamiento). Si no puede establecerse el nivel de glucosa diana hasta las 14:00, la visita se termina y el sujeto puede programarse para una nueva visita de dosificación

55 1 - 7 días después.

La infusión de insulina glulisina se interrumpe inmediatamente antes de la administración de la medicación de estudio. La primera muestra de insulina para PK se toma inmediatamente después. Aproximadamente a las 09:00, se administra la medicación de estudio (Tabla 4),

- el tratamiento de Referencia (R, 0,4 U/kg Lantus® U100)

- 5 • o el tratamiento de Ensayo (T₁₋₃) en un sitio periumbilical

de acuerdo con el plan de aleatorización, usando una técnica de plegamiento de piel estandarizada.

Durante el pinzamiento, se realizan ECG de 12 derivaciones 2 y 12 horas después de la inyección del IP y al final del pinzamiento.

- 10 La medicación de estudio se administra preferiblemente por la misma persona durante todo el estudio. El final de la inyección define el tiempo cero (T₀), que define el tiempo de inicio del periodo de pinzamiento posterior y el muestreo PK.

- 15 Todos los periodos de observación de pinzamiento duran 36 horas y, por lo tanto, terminan aproximadamente a las 21:00 en D2, el final de pinzamiento predefinido. Posteriormente, los sujetos se desconectan de la estación de pinzamiento euglucémico cuando la glucosa en sangre está bien dentro del intervalo isoglucémico, reciben una comida y su tratamiento de insulina habitual.

- 20 En caso de que la glucosa en sangre supere los 11,1 mmol/L (200 mg/dL) durante el periodo de pinzamiento durante 30 minutos después del cese de la infusión de glucosa y el investigador confirme que se ha excluido cualquier posible error que conduzca a niveles falsos de glucosa en sangre por encima de 11,1 mmol/L (200 mg/dL), se administra el análogo de insulina de acción rápida (por ejemplo, insulina glulisina) usado antes de la administración del IP del pinzamiento para prolongar el periodo de pinzamiento a 36 horas para el muestreo de sangre farmacocinético. En este caso, tiene que informarse al patrocinador. Posteriormente, los sujetos se desconectan de la estación de pinzamiento euglucémico cuando la glucosa en sangre está bien dentro del intervalo isoglucémico, reciben una comida y su tratamiento habitual de insulina.

- 25 La reacción en el sitio de inyección se evalúa 15 minutos así como una hora después de la inyección de la medicación del estudio y se documenta como un AE si se observa una puntuación ≥ 3 de acuerdo con la escala de evaluación.

- 30 Antes de recibir el alta, se sirve una comida ad libitum y se reanuda el tratamiento habitual con insulina. Se repiten las mediciones de signos vitales (ritmo cardíaco; presión sanguínea sistólica y diastólica medida después de 10 minutos en la posición en reposo supina, y después de 3 minutos en posición de pie) y se mide la glucosa en sangre (la lectura de glucosa en sangre debe estar por encima de 80 mg/dl). Los sujetos reciben el alta el D2 de TP1 a TP4 después de asegurar su bienestar por el investigador.

Visita de final de estudio

Los sujetos vuelven para una visita de final de estudio (EOS) entre D5 y D14 después de la última dosificación en TP4. Los sujetos han permanecido en ayunas (con la excepción de agua) durante 10 años. El EOS incluye las siguientes investigaciones:

- 35 Examen físico (peso, temperatura corporal) con historia médica actualizada

ECG, medición de signos vitales

Ensayos de laboratorio con hematología, HbA1c, bioquímica, análisis de orina, y si se trata de mujeres un ensayo de \square -HCG en sangre.

Cualquier AE producido o medicación concomitante tomada desde TP4

- 40 Muestra de sangre para la determinación de anticuerpos anti-insulina

El Investigador asegura que, basándose en todos los resultados clínicos disponibles, el sujeto puede recibir el alta del estudio de forma segura.

Restricción (Restricciones) del estudio

- 45 Los sujetos cesan su tratamiento habitual con insulina los Días -2 a -1, dependiendo del tipo de insulina usada (acción prolongada, NPH, intermedia). Posteriormente, los niveles de glucosa en sangre se controlan únicamente por múltiples inyecciones subcutáneas de la insulina de acción corta habitual.

El tratamiento habitual con insulina se reanuda después del alta el Día 2 en TP1 a TP4.

Los sujetos no toman ninguna medicación concomitante que interfiera con el control metabólico o la sensibilidad a la insulina de los sujetos a lo largo del estudio y en las dos semanas previas al estudio.

No se permite el consumo de bebidas alcohólicas, zumo de pomelo y bebidas estimulantes que contengan derivados de xantina (té, café, bebidas de tipo Coca-Cola, chocolate) en las 24 horas previas a la administración de cada medicación de estudio hasta el final del pinzamiento.

5 Se administra zumo de naranja o carbohidratos similares como medidas correctoras de hipoglucemias durante el pinzamiento si no se contrarrestan de forma adecuada por la infusión intravenosa de glucosa cuando el paciente está conectado al BiostatTM.

No se permite ninguna actividad física fuerte durante los 2 días previos a cada administración de la medicación de estudio.

10 En el estudio se incluyen sujetos que fuman 5 o menos cigarrillos al día y los sujetos pueden fumar durante el estudio, excepto el D1 y D2 de TP1 a TP4.

El día de la selección, los sujetos entran en la unidad después de una noche de ayuno de al menos 10 horas (excluyendo una pequeña cantidad de carbohidratos como contramedida de hipoglucemia, si es necesario).

15 La mañana del Día 1 en TP1 a TP4, los sujetos se admiten en la clínica después de una noche en ayunas de al menos 10 horas y permanecen en ayunas hasta el final del periodo de pinzamiento el Día 2. Después de la finalización del pinzamiento se sirve una comida ad libitum.

El suministro de fluidos es de al menos 2500 mL para cada periodo de 36 horas.

Definición de datos fuente

Todas las evaluaciones indicadas a continuación que se presentan en el CRF se confirman por documentación fuente identificada y firmada de forma apropiada, relacionada con:

- 20
 - identificación del sujeto
 - historia médica (en caso de reacción alérgica)
 - examen clínico, signos vitales, peso corporal y altura, temperatura corporal;
 - evaluaciones de laboratorio, ECG
 - puntos de tiempo farmacocinéticos
- 25
 - fechas y horas de visitas y evaluaciones
 - acontecimientos adversos
 - administración del IP
 - medicación previa/concomitante
 - inicio/final del procedimiento de pinzamiento, datos de pinzamiento

30 Ejemplo 13: Consideraciones estadísticas

Determinación del tamaño de muestra

35 El objetivo primario del estudio es evaluar el efecto metabólico relativo para la insulina glargina administrada como una dosis de U100 (R) y tres dosis diferentes de U300 (T₁ a T₃). Basándose en los datos del estudio PKD10086, puede esperarse un valor de aproximadamente 0,375 para la SD_{dentro} de GIR-AUC_{final de pinzamiento} en la escala transformada en logaritmos naturales. Para el cálculo del tamaño de muestra se usaron SD dentro del sujeto entre 0,325 y 0,425.

La Tabla 11 muestra la imprecisión máxima (en términos del intervalo de confianza de 90%) para una relación de tratamiento por parejas de medias geométricas ajustadas que se obtendrán con una exactitud de 90%, para un número total de sujetos N entre 16 y 24, suponiendo una SD dentro del sujeto verdadera con valores entre 0,325 y 0,425 para log GIR-AUC₀₋₃₆.

40

Tabla 11 - Imprecisión máxima para cualquier relación por parejas

Nivel de confianza: 90%			Anchura máxima IC 90% para una relación observada igual a		
Exactitud: 90%					
SD dentro del sujeto en escala logarítmica	Número total de sujetos	Imprecisión Máxima (%)	0,6	0,8	1
0,325	16	19,7	(0,48;0,75)	(0,64;1,00)	(0,80;1,25)
	20	17,5	(0,49;0,73)	(0,66;0,97)	(0,82;1,21)
	24	15,9	(0,50;0,71)	(0,67;0,95)	(0,84;1,19)
0,350	16	21,0	(0,47;0,76)	(0,63;1,01)	(0,79;1,27)
	20	18,7	(0,49;0,74)	(0,65;0,98)	(0,81;1,23)
	24	17,0	(0,50;0,72)	(0,66;0,96)	(0,83;1,21)
0,375	16	22,4	(0,47;0,77)	(0,62;1,03)	(0,78;1,29)
	20	19,9	(0,48;0,75)	(0,64;1,00)	(0,80;1,25)
	24	18,1	(0,49;0,73)	(0,65;0,98)	(0,82;1,22)
0,400	16	23,7	(0,46;0,79)	(0,61;1,05)	(0,76;1,31)
	20	21,1	(0,47;0,76)	(0,63;1,01)	(0,79;1,27)
	24	19,2	(0,48;0,74)	(0,65;0,99)	(0,81;1,24)
0,425	16	24,9	(0,45;0,80)	(0,60;1,07)	(0,75;1,33)
	20	22,3	(0,47;0,77)	(0,62;1,03)	(0,78;1,29)
	24	20,3	(0,48;0,75)	(0,64;1,00)	(0,80;1,25)

Con 20 sujetos, si la SD dentro del sujeto verdadera de GIR-AUC₀₋₃₆ es de hasta 0,375, la relación del tratamiento se estimará con una imprecisión máxima de 19,9% (es decir el valor de CI de 90% será de 0,80 y $1/0,80 = 1,25$ veces la relación observada) con una exactitud de 90%.

5

Se incluirán 24 sujetos para tener 20 sujetos que completen el estudio.

Descripción de los sujetos

Disposición de sujetos

10

Se genera un resumen detallado de la contabilidad de sujetos incluyendo el número de sujetos incluidos, aleatorizados, expuestos (es decir, que recibieron cualquier cantidad de medicación de estudio), que completaron el estudio (es decir, sujetos que completaron todos los periodos de tratamiento del estudio), y que interrumpieron el tratamiento junto con las razones principales para la interrupción.

15

La disposición de sujetos en la visita final se presenta en una lista que incluye el grupo de secuencia, el estado de disposición al final del estudio con la fecha de la última administración del fármaco de estudio, la fecha de visita final, y la razón de la interrupción. Todos los abandonos del estudio que tengan lugar durante o después del inicio de la

primera administración del fármaco de estudio se documentan completamente en el cuerpo del informe de estudio clínico (SCR).

Desviaciones del protocolo

5 Antes del cierre de los datos del estudio, se examinan las desviaciones del Protocolo de Ensayo Clínico con respecto a los criterios definidos para la definición de poblaciones y otros criterios de estudio que incluyen:

- Criterios de inclusión y exclusión
- Cumplimiento del tratamiento
- Cumplimiento del Protocolo de Ensayo Clínico con respecto a terapias prohibidas
- Cumplimiento del Protocolo de Ensayo Clínico con respecto a intervalos entre visitas y duración total del tratamiento;
- Si se realizó la actividad planeada y evaluación de seguridad, etc.

Las desviaciones cubiertas incluyen, pero sin limitación:

- Sujetos sin ninguna evaluación (de cualquier variable) después de la aleatorización;
- Sujetos no expuestos;
- Sujetos sin ninguna evaluación de la variable primaria (si es relevante);
- Sujetos que entraron en el estudio aunque no cumplieron los criterios de inclusión;
- Sujetos que desarrollaron criterios de abandono durante el estudio pero no abandonaron;
- Sujetos que recibieron el tratamiento incorrecto o una dosis incorrecta;
- Sujetos que recibieron una medicación concomitante prohibida.

Las desviaciones importantes se presentan y se resumen.

Población de análisis

Todas las exclusiones de cualquier población de análisis (farmacodinámica, farmacocinética y/o de seguridad) se documentan completamente en el CSR.

Los sujetos excluidos de cualquier población de análisis se presentan con la secuencia de tratamiento y con la razón de la exclusión. Cualquier información relevante se documenta completamente en el CSR. Las frecuencias de sujetos, en general y por tratamiento, para las poblaciones de análisis se presentan en tablas.

En caso de sujetos que han recibido tratamientos que diferían de los asignados de acuerdo con el programa de aleatorización, se realizan análisis de acuerdo con el tratamiento recibido en lugar de análisis de acuerdo con el tratamiento aleatorizado.

Población farmacodinámica

Todos los sujetos sin ninguna desviación importante relacionada con la administración del fármaco de estudio, y para los que se dispone de parámetros PD, se incluyen en la población farmacodinámica. En caso de sujetos con perfiles de PD insuficientes en uno pero no los dos periodos de tratamiento, se incluyen parámetros de los perfiles suficientes en el análisis.

En caso de sujetos que reciben (por razones de seguridad) insulina glulisina dentro del periodo de observación de 36 horas después de la dosificación del IP, sólo se tienen en cuenta los datos farmacodinámicos hasta el momento de la administración de insulina glulisina.

Exclusiones del análisis farmacodinámico

Todas las exclusiones del análisis farmacodinámico se presentan junto con las razones. Las exclusiones se deciden y documentan basándose en la revisión de los datos antes del cierre de la base de datos y del descubrimiento del diseño ciego.

Población de seguridad

Todos los sujetos que se expusieron a cualquier tratamiento de estudio comparativo, independientemente de la

cantidad de tratamiento administrado, se incluyen en la población de seguridad.

Poblaciones farmacocinéticas

- 5 Todos los sujetos sin ninguna desviación importante relacionada con la administración del fármaco de estudio, y para los que se dispone de parámetros PK de insulina, se incluyen en la población farmacocinética. En caso de sujetos con perfiles PK de insulina insuficientes en uno pero no todos los periodos de tratamiento, se incluyen parámetros de los perfiles suficientes en el análisis.

- 10 El ensayo bioanalítico para la insulina glargina interfiere con otras insulinas tales como insulina glulisina. Por lo tanto, se excluyen de la evaluación los datos farmacocinéticos para insulina glargina de los sujetos que han recibido (por razones de seguridad) insulina glulisina dentro del periodo de observación de pinzamiento de 36 horas después de la administración del IP.

Características demográficas y basales

Características demográficas de los sujetos, historia médica y diagnósticos

Se recogen los siguientes datos: sexo, edad, altura, peso y raza. El índice de masa corporal (IMC) basal por sujeto se calcula a partir de los datos de peso corporal y altura previos a la dosis:

- 15
$$\text{IMC} = \text{peso corporal [kg]} / (\text{altura [m]})^2$$

Todas las variables en relación con las características demográficas y de fondo se presentan individualmente y se resumen para la población de seguridad.

Las desviaciones de los criterios de inclusión relacionados con la historia médica y los diagnósticos se presentan y describen individualmente.

- 20 Parámetros de seguridad basales

Para las variables de seguridad, se toma como valor basal el último valor programado antes de la administración del fármaco de estudio dentro del periodo o dentro del estudio, lo que sea aplicable para la variable. Si el valor basal previo a la dosificación se vuelve a comprobar antes de la dosificación, el valor que se ha vuelto a comprobar se considera el valor basal y se usa en los parámetros estadísticos.

- 25 Grado de exposición al tratamiento de estudio y cumplimiento

Los detalles de la dosificación del fármaco de estudio y la información complementaria se presentan individualmente y se resumen si es apropiado.

Se resumen por tratamiento las dosis totales individuales de insulina glargina.

Medicación/terapia previa/concomitante

- 30 Las medicaciones/terapias previas y concomitantes (si las hay) se codifican de acuerdo con la Lista de Referencia de Fármacos de la Organización Mundial de la Salud (WHO-DRL, última versión en uso en el momento del cierre de la base de datos) y se presentan individualmente.

La medicación de insulina concomitante (subcutánea) se presenta por separado.

- 35 La infusión o embolada de insulina administrada en cualquier momento durante el procedimiento de pinzamiento se presenta o representa a lo largo del tiempo en una base individual. La infusión o embolada de insulina administrada después de la dosificación durante el procedimiento de pinzamiento se presenta en una base individual.

Análisis de variables farmacodinámicas

Todos los análisis farmacodinámicos incluyen datos de la población farmacodinámica. No se realiza ningún ajuste del nivel alfa para múltiples análisis.

- 40 Para la farmacodinámica de la insulina glargina, se registra continuamente la concentración de glucosa en sangre y la velocidad de infusión de glucosa (GIR) durante el procedimiento de pinzamiento.

Los análisis estadísticos comparan los tratamientos de ensayo (T₁ a T₃) con el tratamiento de referencia (R).

Descripción de variables farmacodinámicas

- 45 Para conseguir comparabilidad entre la dosificación de insulina ajustada al peso corporal de los sujetos, todos los valores de GIR se dividen por el peso corporal de los sujetos en kg para el análisis. De esta manera, en lo sucesivo, si no se indica otra cosa, GIR siempre se refiere a la velocidad de infusión de glucosa estandarizada para el peso

corporal.

Variable PD primaria

La siguiente variable PD se considera primaria.

- 5
- Área bajo la curva de velocidad de infusión de glucosa estandarizada para el peso corporal frente al tiempo [GIR-AUC₀₋₃₆ (mg/kg)]

El valor de GIR-AUC₀₋₃₆ se calcula de acuerdo con la regla rectangular para la función constante por etapas con la escala de tiempo en minutos.

Variables de PD secundarias

Las siguientes variables de PD son derivadas y se consideran secundarias:

- 10
- Tiempo (h) hasta 50% de GIR-AUC₀₋₃₆ [T_{50%} - GIR-AUC₀₋₃₆ (h)]
 - Velocidad de infusión de glucosa estandarizada para el peso corporal suavizada máxima [GIR_{máx} (mg*min/kg)]
 - Primer tiempo después de la dosificación para alcanzar GIR_{máx} [GIR-T_{máx} (h)]
- 15
- La duración de euglucemia (tiempo hasta la elevación del perfil de glucosa en sangre suavizado por encima del nivel de pinzamiento) se calcula como el tiempo transcurrido desde la dosificación hasta el último valor de la curva de concentración de glucosa en sangre suavizada de o por debajo de 105 mg/dL
 - Las duraciones de la glucosa en sangre controlada dentro de márgenes predefinidos se definen como el tiempo transcurrido desde la dosificación hasta el último valor de la curva de concentración de glucosa en sangre suavizada de o por debajo de
- 20
- 110 mg/dL
 - 130 mg/dL
 - 150 mg/dL

Suavizado

- 25
- El máximo de la GIR estandarizada para el peso corporal de partida está sujeto a las interferencias en el ajuste de la GIR. De esta forma, la obtención de GIR_{máx} y el tiempo hasta GIR_{máx} se basa en una técnica de suavizado LOESS (regresión ponderada localmente en gráficos de dispersión de suavizado) para los datos de GIR estandarizados para el peso corporal de partida. Debido a la morfología esperada de los perfiles de GIR conocidos con Lantus®, se usó un factor de suavizado de 6% (SAS®, PROC LOESS, factor 0,06).

- 30
- Los niveles de glucosa en sangre están sujetos a interferencias. Por lo tanto, la duración de la euglucemia y la duración del control de glucosa en sangre se basan en una técnica de suavizado LOESS (regresión ponderada localmente en gráficos de dispersión de suavizado) para los niveles de glucosa en sangre de partida. Debido a la morfología esperada, se usa un factor de suavizado de 6% (SAS®, PROC LOESS, factor 0,06).

En caso de un suavizado inadecuado, se usa un factor de suavizado diferente para un análisis adicional.

Variables de PD adicionales

- 35
- Se obtienen otros parámetros tales como:
- Tiempo hasta el final de la infusión de glucosa, como el último tiempo después de la dosificación con GIR por encima de cero.

Se obtienen otras variables de PD si se considera necesario para la interpretación de los resultados.

- 40
- Análisis primario de PD

Antes del análisis descrito más adelante, los valores de GIR-AUC₀₋₃₆ se transforman en logaritmos (logaritmos naturales).

El valor de GIR-AUC₀₋₃₆ transformado en logaritmo se analiza con un modelo lineal de efectos mixtos con términos fijados para secuencia, período y tratamiento.

$$\log(\text{parámetro}) = \text{secuencia} + \text{periodo} + \text{tratamiento} + \text{error}$$

y con una matriz R no estructurada de varianzas y covarianzas de tratamiento (i, i) para el sujeto dentro de bloques de secuencia, usando SAS PROC MIXED.

- 5 Se obtiene un intervalo de confianza (IC) de 90% para la relación de medias geométricas de tratamiento (T_1/R , T_2/R , T_3/R) calculando la estimación e IC de 90% para la diferencia entre medias de tratamiento dentro del marco del modelo lineal de efectos mixtos, y después convirtiendo la relación de medias geométricas por la transformación antilogarítmica. Se concluye equivalencia si el IC de 90% para la relación está totalmente dentro del intervalo de referencia de equivalencia de 0,80 a 1,25.
- 10 Se proporcionan listas de relaciones individuales (tratamientos de ensayo frente a tratamiento de referencia) con los correspondientes parámetros estadísticos descriptivos.
- Análisis secundario/análisis de variables secundarias
- Presentaciones descriptivas para perfiles de GIR
- Se representan GIR estandarizados por peso corporal individual ($\text{mg} \cdot \text{min/kg}$) para valores de partida acumulativos y suavizados.
- 15 Se representan perfiles de la media y mediana de los valores de GIR estandarizados para el peso corporal, así como la mediana del porcentaje de los perfiles acumulativos a lo largo del tiempo, por tratamiento.
- Los gráficos acumulativos cubren el tiempo entre la dosificación y el final del pinzamiento.
- Presentaciones descriptivas para parámetros de PD derivados
- 20 Los parámetros de PD se presentan individualmente y se generan parámetros estadísticos descriptivos por tratamiento.
- Relaciones de tratamiento para parámetros de PD secundarios
- Se obtienen relaciones de tratamiento (T_1/R , T_2/R , T_3/R) con límites de confianza para la velocidad de infusión de glucosa estandarizada máxima [$\text{GIR}_{\text{máx}}$ ($\text{mg} \cdot \text{min/kg}$)] usando el modelo lineal de efectos mixtos correspondiente como se ha descrito anteriormente para el análisis primario. Las comparaciones exploratorias entre tratamientos se basan en criterios de bioequivalencia convencionales (límites de confianza de 90% de 0,80 a 1,25).
- 25 La distribución de valores de $\text{GIR} \cdot T_{\text{máx}}$ se representa por gráficos de histograma para cada tratamiento. Además, se proporciona un histograma de diferencias en $\text{GIR} \cdot T_{\text{máx}}$ entre tratamientos de ensayo y referencia.
- Diferencias de tratamiento para parámetros de PD secundarios
- 30 El valor de $T_{50\%} \cdot \text{GIR} \cdot \text{AUC}_{0-36}$ (h) se analiza de forma no paramétrica basándose en el método de Hodges-Lehmann para comparaciones de tratamientos por parejas. Se obtienen los valores de IC para las diferencias de tratamientos por parejas (T_1-R , T_2-R , T_3-R) en medianas. La distribución de valores de $T_{50\%} \cdot \text{GIR} \cdot \text{AUC}_{0-36}$ se representa por gráficos de histograma para cada tratamiento. Además, se proporciona un histograma de diferencias en $T_{50\%} \cdot \text{GIR} \cdot \text{AUC}_{0-36}$ entre tratamientos (T_1-R , T_2-R , T_3-R).
- 35 La distribución de valores de $\text{GIR} \cdot T_{\text{máx}}$ se representa por gráficos de histograma para cada tratamiento. Además, se proporciona un histograma de diferencias en $\text{GIR} \cdot T_{\text{máx}}$ entre tratamientos de ensayo y referencia.
- La duración de la euglucemia y el control de la glucosa en sangre se presentan por gráficos de histograma. Las comparaciones de tratamientos se realizan de forma no paramétrica.
- Realización del pinzamiento
- Se representan perfiles individuales de la concentración de glucosa en sangre.
- 40 La duración del pinzamiento se obtiene por pinzamiento como el tiempo entre la dosificación y el final del pinzamiento en horas.
- 45 La variabilidad individual de la glucosa en sangre por pinzamiento se obtiene como el coeficiente de variación (CV%) de los valores de glucosa en sangre entre el inicio individual y el final individual del pinzamiento (o primera administración de insulina glulisina durante el pinzamiento). El nivel de glucosa en sangre medio individual por pinzamiento se obtiene como la media aritmética de los valores de glucosa en sangre entre el inicio individual y el final individual del pinzamiento (o primera administración de insulina glulisina durante el pinzamiento).
- Los parámetros se presentan individualmente y se resumen de forma descriptiva dentro del tratamiento.

Análisis de datos de seguridad

La evaluación de seguridad se basa en la revisión de los valores individuales (anomalías potencialmente significativas desde el punto de vista clínico), estadística descriptiva (tablas de resumen, gráficos) y si es necesario análisis estadístico (estimaciones apropiadas, intervalos de confianza). Se usan criterios de "Anomalías Potencialmente Significativas desde el punto de vista Clínico" (PCSA) de acuerdo con el criterio convencional de sanofi-aventis. Los criterios se documentan en el plan de análisis estadístico de este estudio. El análisis de seguridad se realiza de acuerdo con los patrones de sanofi-aventis relacionados con el análisis y la presentación de datos de seguridad procedentes de ensayos clínicos.

Todos los análisis de seguridad incluyen datos de la población de seguridad.

10 Para todos los datos de seguridad, el periodo de observación se divide en segmentos de tres tipos diferentes:

- el periodo del pre-tratamiento se define como el tiempo entre cuando el sujeto proporciona el consentimiento informado y la primera administración de la medicación de estudio
- el periodo en tratamiento se define como el tiempo desde la administración de la (primera) medicación de estudio hasta 72 horas después.
- 15 • el periodo post-tratamiento se define como el tiempo después del periodo en tratamiento para la (primera) administración de la medicación de estudio en el siguiente periodo o el final del periodo de seguimiento.

Acontecimientos adversos

Todos los AE se codifican usando MedRA (última versión en uso en el momento del cierre de la base de datos).

Se proporcionan las siguientes listas para todos los acontecimientos adversos:

- 20
- Lista de todos los acontecimientos adversos (por sujeto)
 - Lista de comentarios relacionados con acontecimientos adversos.

Definiciones

Para los datos de seguridad, el periodo de observación se divide en segmentos de tres tipos diferentes:

- 25
- el periodo de pre-tratamiento se define como el tiempo entre cuando el sujeto proporciona el consentimiento informado y la primera administración de la medicación de estudio comparativa
 - el periodo en tratamiento se define como el tiempo desde la administración de la (primera) medicación de estudio hasta 72 horas después.
 - el periodo de post-tratamiento se define como el tiempo después del periodo en tratamiento para la (primera) administración de la medicación de estudio en el siguiente periodo o el final del periodo de seguimiento.

30 Acontecimientos adversos emergentes del tratamiento

Todos los AE se clasifican como se indica a continuación:

- 35
- Los acontecimientos adversos emergentes de tratamiento (TEAE) son cualquier AE con un inicio (incluyendo empeoramiento) durante el periodo en tratamiento.
 - Los acontecimientos adversos no emergentes del tratamiento (NTEAE) son cualquier AE no clasificado como TEAE:
 - AE previos al tratamiento, definidos como AE que se desarrollaron (o empeoraron) durante el periodo de pretratamiento antes de la primera dosis de medicación de estudio.
 - AE posteriores al tratamiento, definidos como AE que se desarrollaron durante un periodo posterior al tratamiento sin empeorar durante una fase en tratamiento.

40 Asignación a tratamientos

Para el análisis, cada TEAE se asigna al último tratamiento administrado antes del inicio (o empeoramiento) del AE. Si se desarrolla un TEAE en un tratamiento y empeora con un tratamiento posterior, se considera emergente del tratamiento para los dos tratamientos.

Información que falta

En caso de que falte información o que haya una información incoherente, un AE se cuenta como un TEAE a menos que pueda descartarse claramente que no es un TEAE (por ejemplo, por fechas parciales u otra información).

Si la fecha de inicio de un AE está incompleta o falta, se asume que se ha producido después de la primera administración de la medicación de estudio excepto si una fecha incompleta indica que el AE empezó antes del tratamiento.

Acontecimientos adversos emergentes del tratamiento

Los acontecimientos adversos emergentes del tratamiento se presentan y resumen por tratamiento:

- Visión general de TEAE (número y porcentaje de sujetos con al menos un TEAE, TEAE grave, TEAE que conduce a interrupciones, muerte (si es aplicable)).
- Resumen de todos los acontecimientos adversos emergentes del tratamiento por grupo sistémico primario y término preferido (número y porcentaje de sujetos con al menos un TEAE ("tabla en el texto"))
 - Tabla sin número de acontecimientos (para el cuerpo del informe del estudio clínico)
 - Tabla con número de acontecimientos (para el apéndice del informe del estudio clínico)
 - Tabla con número de sujetos por formulación (U100, U300) y de sujetos en general (para el apéndice del informe del estudio clínico).
- Lista de sujetos que presentan acontecimientos adversos emergentes del tratamiento por tratamiento, grupo sistémico y término preferido.

Muertes, acontecimientos adversos graves y otros acontecimientos adversos significativos

En caso de cualquier aparición de muertes, AE graves y otros AE significativos, se presentan individualmente y se describen en el informe de estudio con detalle.

Acontecimientos adversos que conducen a la interrupción del tratamiento

En caso de cualquier aparición, se generan listas de sujetos individuales para todos los acontecimientos adversos que conducen a la interrupción del tratamiento.

Evaluaciones de laboratorio clínico

Datos de hematología y bioquímica

Los parámetros de seguridad del laboratorio se miden el D1 del periodo de tratamiento 1 y en EOS. Por programa, estos parámetros de seguridad se evalúan durante el periodo de tratamiento (excepto la hematología en TP3 y TP4).

Los valores a usar como valores basales (hematología y bioquímica) son los valores recogidos en D1 antes de la dosis en el primer periodo de tratamiento. Si cualquiera de los ensayos basales programados se repite para cualquier sujeto, los últimos valores que se han vuelto a comprobar se consideran basales, siempre que se realizaran antes de la primera administración del IP.

Se proporcionan las siguientes tablas y listas:

- Parámetros estadísticos descriptivos para datos de partida y cambios desde el valor basal (incluyendo % de cambio para creatinina)
- Se proporcionará una lista específica de datos individuales de sujetos con valores de PCSA posteriores al nivel basal, clasificados por función y tiempo de medición
- Todos los datos individuales, incluyendo los valores que se han vuelto a comprobar, para la hematología y bioquímica planeadas, se presentan por función biológica y tiempo de medición. Si se dispone de datos de ensayos de laboratorio no programados, se incluyen en esta lista. En estas listas, los datos individuales se marcan cuando son menores o mayores que los límites inferior o superior de laboratorio y/o cuando alcanzan el límite absoluto del criterio de PCSA, cuando está definido.
- Se proporciona una lista de datos de función hepática para sujetos que experimentaron al menos uno de los siguientes:
 - al menos una aparición de ALT > 3 ULN y al menos una aparición de bilirrubina total > 2 ULN durante el estudio, siendo al menos uno de ellos después de la primera dosis
 - bilirrubina conjugada > 35% de bilirrubina total y bilirrubina total > 1,5 ULN se proporcionarán en la misma

muestra después de la primera dosis, independientemente de la definición de la fase en tratamiento.

- Se proporciona una lista relacionada con un aumento en ALT ≥ 2 ULN, incluyendo en particular la información sobre la ingesta de fármacos, la historia médica y quirúrgica, los hábitos de alcohol, factores de desencadenamiento, detalles de acontecimientos con valores de ALT, signos y síntomas asociados.

- 5
- Se proporcionan una lista de definiciones de fuera del intervalo.

En las listas de sujetos con PCSA, se expresan los datos de la función hepática, CPK y eosinófilos como múltiplos del ULN correspondiente.

Datos de análisis de orina

- 10
- Se presentan todos los resultados de los ensayos en orina cualitativos (tiras reactivas), incluyendo los valores que se han vuelto a comprobar.

Signos vitales

Presión sanguínea y ritmo cardíaco

El ritmo cardíaco y la presión sanguínea sistólica y diastólica (SBP y DBP) se miden después de 10 minutos en posición en reposo supina y también después de 3 minutos en posición de pie, excepto cuando están conectados al Biostator™.

- 15
- Los valores a usar como valores basales son el valor de evaluación previo a la dosis de D1 de cada periodo de tratamiento. Si cualquiera de los ensayos basales programados se repite para cualquier sujeto, los últimos valores que se han vuelto a programar se consideran los basales, siempre que se realizaran antes de la administración del IP.

Para el ritmo cardíaco y la presión sanguínea, las diferencias ortostáticas se calculan como cambio desde la posición supina a la posición de pie.

- 20
- Para todos los parámetros, se realizará un análisis "En Tratamiento" que incluya todos los valores no planeados y valores que se han vuelto a comprobar.

Se proporcionan las siguientes tablas y listas:

- Se proporcionan tablas de resumen de recuento de sujetos con PCSA como tablas de incidencia de PCSA después del punto basal, independientemente del estado normal o anormal de punto basal.

- 25
- Para el ritmo cardíaco y las presiones sanguíneas (posiciones supina y de pie), los datos de partida y los cambios desde el punto basal (sólo en posición supina) se resumen en parámetros estadísticos descriptivos, por tipo de medición (posición) de cada parámetro y punto de tiempo, basándose en mediciones planeadas previas a la dosis y el punto basal definido.

- 30
- Se presentan todos los datos individuales, incluyendo los valores no planeados y que se han vuelto a comprobar (posición supina, de pie, diferencia ortostática). En las listas, los valores se marcan cuando alcanzan los límites de los criterios de PCSA cuando se han definido.

- Se proporciona una lista de datos de PCSA posteriores al valor basal individuales.
- También se presentan en el Apéndice, si están disponibles, los comentarios relacionados con las evaluaciones de los signos vitales.

- 35
- Peso corporal, índice de masa corporal y temperatura corporal

Los valores a usar como valores basales para el peso corporal e IMC son los valores recogidos el D1 de TP1.

Los valores a usar como valores basales para la temperatura corporal son los valores recogidos el D1 de cada TP.

Se presentan datos individuales que incluyen marcas (sólo en peso) para valores cuando alcanzan los límites de los criterios de PCSA.

- 40
- ECG

El ritmo cardíaco, y los intervalos PQ, QRS y QT y QT corregido (QTc) de la lectura automática se analizan como valor de parámetro de partida y cambios del valor basal.

Los valores a usar como valores basales son el valor previo a la dosis del Día 1 de cada periodo. Si cualquiera de los ensayos basales programados se repite para cualquier sujeto, los valores que se han vuelto a comprobar se consideran los valores basales, siempre que se realizaran antes de la administración del fármaco del periodo.

- 45

Para todos los parámetros, se realiza un análisis en tratamiento usando todas las evaluaciones posteriores al punto basal realizadas durante el periodo en tratamiento, incluyendo los valores que se han vuelto a comprobar. Los recuentos de sujetos con PCSA posteriores al punto basal se proporcionan en tablas de resumen independientemente del estado normal o anormal del punto basal, por grupo de tratamiento.

- 5 Los datos de partida para todos los parámetros y el cambio desde el punto basal se resumen en parámetros estadísticos descriptivos por parámetro, tratamiento y momento de medición.

Los datos individuales, incluyendo los valores que se han vuelto a comprobar, se presentan, clasificados por tratamiento, sujeto, visita y momento de medición. En las listas, se marcan los valores que alcanzan los límites de los criterios de PCSA.

- 10 Se proporciona una lista de datos individuales de sujetos con PCSA posteriores al punto basal, clasificados por tipo de medición y clasificados por sujeto, periodo y momento de medición.

Además, también se proporciona una lista separada del perfil cardíaco para sujetos con QTc prolongado (>450 ms para Hombres y >470 ms para Mujeres) o cambios desde el punto basal en QTc >60 ms (para hombres y mujeres) y una lista de sujetos con al menos una anomalía en la evaluación cualitativa (es decir, ECG anormal) después de la primera dosificación.

15

Otros parámetros de seguridad relacionados

Examen físico

Si está disponible, se proporciona una lista de comentarios relacionados con el examen físico.

Tolerancia local en el sitio de inyección

- 20 Se proporcionan distribuciones de frecuencia por tratamiento para niveles de tolerancia local en el sitio de inyección. Se presentan datos individuales. Dentro de cada criterio y tratamiento, se cuenta un sujeto con su resultado más severo.

Reacciones alérgicas

Listas de reacciones alérgicas

- 25 Todos los casos de reacción alérgica se documentan como acontecimientos adversos con información complementaria detallada. Todos los casos se describen con detalle en el informe de estudio clínico.

Se presentan casos individuales y todos los datos complementarios.

Historia médica alérgica e historia médica de la familia

- 30 La historia médica alérgica y la historia médica de la familia se documentan para sujetos con cualquier reacción alérgica potencial. Todos los detalles de la historia médica alérgica y de la historia médica familiar alérgica se presentan en una base individual.

Anticuerpos anti-insulina

Se proporciona una tabla de resumen con el número de sujetos para los resultados de anticuerpos anti-insulina durante el estudio y de las investigaciones posteriores al estudio. Se proporciona una lista individual de sujetos.

- 35 Análisis de datos farmacocinéticos

Parámetros farmacocinéticos

La lista de parámetros PK se ha mostrado anteriormente. Además, se obtiene $T_{50\%}$ -AUC₀₋₃₆ para insulina en el contexto del análisis estadístico.

Análisis estadístico

- 40 Los parámetros farmacocinéticos de insulina glargina se presentan y se resumen usando al menos medias aritméticas y geométricas, desviación típica (SD), error típico de la media (SEM), coeficiente de variación (CV%), mínimo, mediana y máximo para cada tratamiento.

Todos los análisis farmacocinéticos incluyen datos de las poblaciones farmacocinéticas correspondientes como se ha definido anteriormente. No se realiza un ajuste de nivel alfa para análisis múltiples.

- 45 Los análisis estadísticos comparan tratamientos de ensayo (T_1 a T_3) frente al tratamiento de referencia (R).

Análisis de relaciones de tratamiento

El análisis se realiza para AUC₀₋₃₆ para insulina glargina. Antes de todos los análisis descritos más adelante, los valores de AUC₀₋₃₆ se transforman en logaritmos (logaritmos naturales).

- 5 Los parámetros transformados en logaritmo se analizan con un modelo lineal de efectos mixtos con términos fijados para secuencia, periodo y tratamiento.

$$\log(\text{parámetro}) = \text{secuencia} + \text{periodo} + \text{tratamiento} + \text{error}$$

y con una matriz R no estructurada de varianzas y covarianzas de tratamiento (i, i) para el sujeto dentro de bloques de secuencia, usando el SAS PROC MIXED.

- 10 Las estimaciones y el intervalo de confianza (IC) de 90% para la relación de medias geométricas de tratamientos (T₁/R, T₂/R, T₃/R) se obtienen calculando la estimación e IC 90% para la diferencia entre medias de tratamiento dentro del marco del modelo lineal de efectos mixtos, y después convirtiendo la relación de medias geométricas por la transformación antilogarítmica. Se concluye bioequivalencia si el IC de 90% para las relaciones está totalmente dentro del intervalo de referencia de equivalencia de 0,80 a 1,25.

- 15 Se proporcionan listas de relaciones de tratamientos individuales (T₁/R, T₂/R, T₃/R) con los parámetros estadísticos descriptivos correspondientes.

T_{50%}-AUC₀₋₃₆ para insulina

La distribución de los valores de T_{50%}-AUC₀₋₃₆ para insulina se representa por gráficos de histograma para cada tratamiento. Además, se proporciona un histograma de diferencias en T_{50%}-AUC₀₋₃₆ entre tratamientos (T₁/R, T₂/R, T₃/R).

- 20 El T_{50%}-AUC₀₋₃₆ (h) se analiza de forma no paramétrica

Relación de exposición a la dosis para insulina glargina U300

Análisis descriptivo de relación de exposición a la dosis

La relación de exposición a la dosis para la insulina glargina U300 se describe gráficamente por

- gráficos por sujeto de exposición con respecto a dosis total por sujeto
- 25 • gráficos por sujeto de exposición con respecto a dosis por kg de peso corporal
- gráficos por sujeto de dosis de exposición normalizada con respecto a dosis por kg de peso corporal (normalización de la dosis sobre 0,6 U/kg)

Si se considera necesario para la interpretación de resultados, se añaden análisis descriptivos adicionales.

Análisis estadístico de relación de exposición a la dosis

- 30 Para el AUC de insulina glargina calculado para los tratamientos de ensayo T₁-T₃, se evaluó la relación de exposición a la dosis usando el modelo de potencia empírico (PK - parámetro = a * dosis^b), junto con una interpretación de la "estimación", de acuerdo con las recomendaciones de Gough et al. (Gough K, Hutchison M, Keene O et al. Assessment of dose proportionality: report from the pharmaceutical industry. Drug Information Journal 1995; 29: 1039-1048).

- 35 El modelo de potencia empírica proporciona una medida rápida e interpretable del grado de no proporcionalidad, que puede usarse tanto para confirmar la proporcionalidad como para evaluar el significado farmacocinético y clínico de cualquier desviación. Sin embargo, el análisis de los estudios de proporcionalidad de la dosis requiere una estimación en lugar de ensayar el significado para que pueda evaluarse el significado farmacocinético y clínico de cualquier no proporcionalidad.

- 40 El modelo de potencia se ajusta en la escala transformada en logaritmos usando un modelo de potencia de coeficientes aleatorios para dosis (en U/kg de peso corporal)

$$\log(\text{parámetro}) = (\log(\alpha) + \alpha[i]) + (\beta + \beta[i]) * \log(\text{dosis})$$

en el que log(α) y β son la intersección de la población y la pendiente, respectivamente, y α[i] y β[i] son las desviaciones aleatorias de α y β, respectivamente, para el i-ésimo sujeto.

- 45 Se obtienen estimaciones para β con intervalos de confianza de 90% a través de mínimos cuadrados generalizados estimados en el procedimiento SAS®/PROC MIXED, con estimaciones de probabilidad máxima restringidas (REML) de parámetros de covarianza. Además se usan estimaciones e intervalos de confianza de 90% para β para obtener estimaciones a intervalos de confianza de 90% para el aumento del parámetro PK asociado con un aumento de r

veces en dosis ($r=1,5$ y $r=2,25$ [es decir, alta dosis / baja dosis]), por exponenciación de r a la potencia de la estimación de beta y los límites de confianza.

- 5 Si hay evidencia de falta de ajuste del modelo, se usa el modelo de efecto mixto (como se usó para el análisis de las relaciones de tratamiento) para el análisis. Se obtienen estimaciones con IC de 90% para el parámetro asociadas con aumentos de la dosis por parejas calculando primero estimaciones con IC para las diferencias por parejas entre dosis en la estructura de modelo de efectos mixtos, y después convirtiendo en relaciones usando la transformación antilogarítmica.

Análisis PK/PD

Si es apropiado, se generan representaciones gráficas (gráficos de dispersión) para explorar la relación PK/PD.

10 Ejemplo 14: Resultados del estudio

Disposición de sujetos

- 15 Se incluyó un total de 24 sujetos con diabetes mellitus de Tipo 1, se aleatorizaron y recibieron al menos una dosis de medicación de estudio. De los 24 sujetos aleatorizados, 2 sujetos abandonaron el estudio por petición propia. Veintidós (22) sujetos completaron el estudio de acuerdo con el protocolo y se incluyeron en los análisis farmacodinámicos (PD) y farmacocinético (PK). Los 24 sujetos tratados se incluyeron en la evaluación de seguridad.

No hubo desviaciones del protocolo importantes.

Características demográficas

- 20 Se recogieron los siguientes datos (Tabla 12): sexo, edad en la selección, altura, peso y raza. Se calcularon los índices de masa corporal (IMC) por sujeto a partir de los datos de peso corporal y altura: $IMC = \text{peso corporal [kg]} \cdot (\text{altura [m]})^{-2}$.

Tabla 12: Datos demográficos					
Sexo	IMC (kg/m ²)	Peso (kg)	Edad (años)	Raza (n) [%]	N
5 F, 19 M	25,55 1,99 (SD) mín 20,5 : máx 28,3	79,83 9,67 (SD) mín 57,3 : máx 94,3	42,6 10,0 (SD) mín 19 : máx 60	Caucásica /blanca 24 [100]	N 24

Realización del pinzamiento

- 25 En los cuatro períodos de tratamiento para cada sujeto, R (Lantus U100), T1 (0,4 U/kg HOE901-U 300), T2 (0,6 U/kg HOE901-U 300) y T3 (0,9 U/kg HOE901-U 300), las concentraciones de glucosa en sangre basales de los individuos antes de la medicación con insulina fueron similares, definiendo el nivel de pinzamiento a 100 mg/dl. La duración del período de observación de los pinzamientos después de la dosificación fue de 36 horas e igual en todos los períodos de tratamiento.

Criterios de valoración primarios

No se estableció equivalencia en biodisponibilidad (exposición) ni bio-eficacia (actividad) para R y T.

30 *Variables primarias*

- El área bajo la curva de concentración de insulina glargina en suero frente al tiempo de 0 a 36 horas (INS-AUC_(0-36h)) no fue equivalente para R ni T1 ni T2 y fue aproximadamente equivalente con T3. Se estimó que la exposición era menor en aproximadamente 37% con T1, menor en aproximadamente 43% con T2 y similar con T3, en comparación con R.
- 35 El área bajo la curva de GIR frente al tiempo de 0 a 36 horas (GIR-AUC_(0-36h)) no fue equivalente para R ni T1 ni T2 y fue aproximadamente equivalente con T3. El consumo de glucosa exógena necesario para conservar el control de glucosa en sangre se estimó que era menor en aproximadamente 88% con T1, 67% con T2 mientras que era aproximadamente similar con T3.

Variables secundarias

- 40 El tiempo hasta 50% de INS-AUC_(0-36h) (h) con R fue de aproximadamente 14 h y, por lo tanto, más corto que aproximadamente las 16 h, 16 h y 19 h obtenidas con T1, T2 y T3, respectivamente.

El tiempo hasta 50% de INS-AUC_(0-36h) (h) con R fue de aproximadamente 12 h y, por lo tanto, más corto que aproximadamente las 17 h, 18 h y 20 h obtenidas con T1, T2 y T3, respectivamente.

Seguridad

5 No se notificaron acontecimientos adversos (AE) graves o abandonos debidos a AE. Dos sujetos en R, 2 en T1 y 4 en T3 presentaron un total de 8 TEAE, todos ellos fueron de intensidad leve a moderada, y se resolvieron sin secuelas. El acontecimiento notificado con más frecuencia fue dolor de cabeza. Debe apreciarse, que el dolor de cabeza es una observación común para estudios de pinzamiento y está relacionado con infusión de soluciones de glucosa hiperosmolares. Sin embargo, no puede excluirse una asociación con los productos de investigación. No se notificó ninguna reacción en el sitio de inyección con T1, T2 y T3 mientras que 2 sujetos con R desarrollaron eritema apenas perceptible en el sitio inyección.

Conclusiones

15 Las mismas dosis de R y T U 300 no son equivalentes en biodisponibilidad (exposición) y bio-eficacia (actividad) después de la administración de una sola dosis. La exposición y actividad después de T1 (0,4 U/kg) y T2 (0,6 U/kg) fueron menores en comparación con la exposición y actividad después de la administración de R (0,4 U/kg). R y T3 fueron prácticamente equivalentes en cuanto a la exposición y consumo de glucosa exógena.

Sin embargo, T1, T2 y T3 muestran perfiles de PK (exposición) y PD (actividad) aún mejores incluso con menos fluctuación alrededor de las medias que R, es decir, un perfil como el que sería deseable para el suministro de insulina basal. Esto es particularmente evidente cuando se compara R y T3 que proporcionan una exposición total equivalente nominal y un consumo de glucosa total a través de diferentes perfiles.

20 Estas diferencias sorprendentes e inesperadas en exposición y actividad entre formulaciones R (Lantus U100) y T (HOE901-U300) en sujetos con diabetes mellitus de tipo 1 se muestran eficazmente en las figuras proporcionadas más adelante.

Además, la administración de T (HOE901-U300) estaba fuera de los problemas de seguridad y tolerancia.

25 Ejemplo 15: Fundamento del estudio para comparar la actividad glucodinámica y la exposición de dos dosis subcutáneas diferentes de (HOE901-U300) a Lantus U100 en pacientes con diabetes mellitus de tipo 1.

30 Los resultados del estudio en sujetos sanos y en sujetos con diabetes mellitus de Tipo 1 (véanse los ejemplos anteriores) mostraron que la exposición y eficacia no eran equivalentes entre Lantus® U100 e insulina glargina U300. Los sujetos recibieron la misma dosis de insulina glargina (0,4 U/kg) para U100 y U300, pero la administración de la misma cantidad unitaria de U300 produjo menos exposición a menos consumo de glucosa exógena para conservar el control de glucosa en sangre que la administración de U100. Aunque Lantus U100 muestra perfiles de exposición y farmacodinámicos sin una fluctuación pronunciada alrededor de las medias, sin embargo, HOE901-U300 mostró incluso menos fluctuación en exposición y perfiles farmacodinámicos, como sería deseable para un suministro de insulina basal, con una duración de acción incluso más prolongada.

35 Para evaluar el perfil farmacocinético y farmacodinámico en condiciones de estado estacionario, un nuevo estudio descrito en los siguientes ejemplos compara, en consecuencia, dos dosis subcutáneas diferentes de insulina glargina U300 frente a una dosis convencional de Lantus® U100 como comparador con una situación de pinzamiento euglucémico final en pacientes con diabetes mellitus de tipo 1. Este estudio pretende estimar una dosis de U300 que sea equieficaz a 0,4 U/kg de Lantus® U100 como se evalúa por parámetros del control de glucosa en sangre y la disposición de glucosa en sangre proporcionados por la técnica de pinzamiento.

40 La exposición a insulina glargina se evalúa a partir de perfiles de concentración-tiempo después de la administración subcutánea repetida en estado estacionario, y la actividad como utilización de glucosa por unidad insulina en estado estacionario.

45 El estudio comprende dos tratamientos cruzados (R y T1, y R y T2) en 2 grupos paralelos, con 2 periodos de tratamiento (TP1, TP2) y 2 secuencias cada uno. Hay una visita de selección (D-21 a D-3), visitas de tratamiento (D1 a D10 en TP1 y TP2 con dosificación por la tarde), con periodos en casa (D1 a D4 por la mañana y D8 por la mañana a D10 por la tarde para evaluaciones de pinzamiento) y una visita de final de estudios (entre D7 y D10 después de la última dosificación) con evaluaciones finales de parámetros de seguridad.

50 La dosis de Lantus® U100 de 0,4 U/kg seleccionada para el estudio está bien caracterizada para proporcionar un control de glucosa en sangre euglucémico en pacientes con diabetes de tipo 1 y se ha investigado fácilmente en otros estudios de pinzamiento con pacientes con diabetes de tipo 1.

Se ensayan dos dosis diferentes para insulina glargina U300, 0,4 y 0,6 U/kg. Este intervalo de dosificación permite intrapolar una dosis aproximada equieficaz a 0,4 U/kg de Lantus® U100. La dosis de 0,4 U/kg de insulina glargina U300 ya se ha ensayado en voluntarios sanos y sujetos con diabetes mellitus de tipo 1 (véanse los ejemplos anteriores) y se descubrió que era menos activa que 0,4 U/kg de Lantus® U100 dentro de 30 y 36 horas, respectivamente, las

terminaciones predefinidas de los períodos de observación. El control de la glucosa en sangre con 0,4 U/kg de insulina glargina U300 necesitaba menos disposición de glucosa total que la medicación de referencia (0,4 U/kg de Lantus® U100). Es de esperar que una dosis correspondientemente mayor de insulina glargina U300, por ejemplo, 0,6 U/kg de insulina glargina U300, dé como resultado un control de glucosa en sangre incluso más preciso con menos disposición de glucosa total. Además, el aumento proporcional de la dosis permite explorar los perfiles de exposición y efecto para la proporcionalidad de la dosis.

Un estudio en pacientes con diabetes de tipo 1 evita confundir el impacto de la insulina endógena y permite evaluar mejor la exposición y duración de la acción.

Este estudio tiene un diseño cruzado; basado en el resultado de estudios previos se compararán no más que dos dosis de HOE901-U300 con Lantus® U100. La evaluación de la actividad glucodinámica de productos de insulina de actuación prolongada requiere una situación de pinzamiento euglucémico más allá de 24 horas, el intervalo de inyección predefinido, debido a la duración de acción prolongada.

El ingrediente farmacéutico activo, insulina glargina, es igual en las dos formulaciones, U100 y U300. Las dosis usadas en este estudio están dentro del intervalo del uso regular. Aunque no se excluye completamente un riesgo general de hipoglucemia, se controla por la técnica de pinzamiento euglucémico.

Farmacodinámica

La actividad farmacodinámica de insulina glargina se evalúa por la técnica de pinzamiento euglucémico en pacientes con diabetes de tipo 1, que es el procedimiento convencional establecido para evaluar el efecto de productos de insulina administrados exógenos sobre la disposición de glucosa en sangre.

Los parámetros específicos para evaluar la disposición de glucosa en una situación de pinzamiento euglucémico son la velocidad de infusión de glucosa estandarizada con respecto al peso corporal (GIR), la glucosa total dispuesta dentro de 24 y 36 horas, respectivamente, GIR-AUC₀₋₂₄ y GIR-AUC₀₋₃₆, y los tiempos necesarios hasta un porcentaje dado de GIR-AUC₀₋₂₄ y GIR-AUC₀₋₃₆, tal como el tiempo hasta 50% de GIR-AUC₀₋₃₆.

Otros parámetros auxiliares son la GIR estandarizada con respecto al peso corporal suavizada máxima, GIR_{máx}, y el tiempo hasta GIR_{máx}, GIR-T_{máx}.

La duración de la acción de la insulina glargina se obtiene a partir del tiempo entre la dosificación y desviaciones especificadas previamente por encima del nivel euglucémico (pinzamiento).

Se realiza un seguimiento de glucosa durante 36 horas debido a la larga duración de acción de la insulina glargina después de la administración subcutánea.

Farmacocinética

Debido a la naturaleza de liberación prolongada de la insulina glargina hay una falta de picos pronunciados en el perfil de concentración. Por lo tanto, el tiempo hasta 50% de INS-AUC (por ejemplo, T_{50%} INS-AUC₀₋₃₆) se calcula como una medición para la localización en el tiempo del perfil de exposición a insulina glargina, e INS-C_{máx} e INS-T_{máx} servirán como medidas adicionales.

Objetivos primarios del estudio

El objetivo primario del estudio es evaluar el control de glucosa en sangre y el consumo de glucosa exógena requerido de dos dosis diferentes insulina glargina U300 frente a 0,4 U/kg de Lantus® U100 en estado estacionario.

Objetivos secundarios del estudio

Los objetivos secundarios del estudio son evaluar en estado estacionario, las relaciones de exposición de dos dosis diferentes de insulina glargina U100 frente 0,4 U/kg de Lantus® U100, para comparar la duración de acción de dos dosis diferentes de insulina glargina U300 frente a 0,4 U/kg de Lantus® U100, para explorar la relación de respuesta a la dosis y exposición a la dosis de la insulina glargina U300 y para evaluar la seguridad y tolerancia de la insulina glargina U300 en sujetos con diabetes de tipo 1.

Ejemplo 16: Cambio de propiedades de disolución de formulaciones ácidas de insulinas de acción prolongada a mayores concentraciones

La influencia de las mayores concentraciones de formulaciones de insulina glargina con respecto a las propiedades de disolución se investiga usando un sistema de ensayo *in vitro*. Para hacerlo, se realizan estudios de precipitación usando un tampón fosfato con un pH de 7,4, que simula las condiciones *in vivo*.

El sobrenadante de la insulina precipitada se investiga usando una técnica HPLC para determinar el contenido de insulina glargina.

Descripción detallada de los estudios:

Preparación de la solución tampón de precipitación:

Se disuelven 19,32 mg de dihidrógeno fosfato sódico monohidrato (M: 137,98 g/mol) por ml de agua. Para el ajuste del pH a 7,4 se usa hidróxido sódico 0,1 M o ácido clorhídrico 0,1 M.

5 *Realización de los estudios de precipitación*

Se ponen en tubos de plástico soluciones de producto farmacéutico de insulina glargina que tiene concentraciones de hasta 1000 U/ml y que comprenden la misma cantidad total de insulina glargina y el tampón y se agitan ligeramente. Después de la precipitación de la insulina glargina, las dispersiones se centrifugan a bajas rotaciones durante un período de tiempo predefinido. Se coge un volumen definido del medio de disolución y se sustituye con medio de tampón recién preparado.

10

Determinación del contenido de insulina

El contenido de insulina glargina en las muestras del sobrenadante se cuantifica frente al patrón de referencia de insulina respectivo por HPLC de fase inversa usando un sistema de dos fases móviles, que contiene un tampón de dihidrógeno fosfato sódico en agua, cloruro sódico (NaCl) y diferentes cantidades de acetonitrilo.

15 Como fase estacionaria se usa una columna de octadecilo, la longitud de onda de detección es de 215 nm.

El perfil de liberación de insulina glargina a partir de las soluciones más concentradas (por ejemplo U500 y U1000) es más plano y prolongado en comparación con Lantus U100.

La concentración de 100 U/mL es un ejemplo de referencia.

Ejemplo 17: Investigación microscópica de precipitados

20 Los precipitados de formulaciones de insulina glargina que tienen concentraciones de 100 U/mL, 300 U/mL, 500 U/mL, 700 U/mL y 1000 U/mL se han investigado por microscopía (las concentraciones de 100 U/mL, 700 U/mL y 1000 U/mL son ejemplos de referencia). Dichas formulaciones (con una cantidad idéntica de 60 U de insulina glargina) se han precipitado en 200 µL de un tampón fosfato, pH 7,4 y se investigaron por microscopía óptica de luz transmitida ((Olympus Model BX61) con ampliaciones de 100x, las imágenes se muestran a continuación y también presentan los diámetros máximos. Estas investigaciones revelaron diferencias en las características de precipitación, que conducen a partículas notablemente más grandes con mayores concentraciones. Los resultados se muestran en la Figura 8.

25

Ejemplo 18: Efecto de reducción de glucosa en sangre de la insulina glargina en perros

Se evaluó el efecto reductor de la glucosa en sangre en perros Beagle normoglucémicos sanos. Los perros recibieron inyecciones subcutáneas individuales de 0,3 UI/kg. Se determinó la glucosa en sangre venosa antes de la primera inyección y posteriormente hasta 24 horas después.

30

Los animales se cogieron de la cohorte de ~30 perros Beagle macho normoglucémicos sanos, obtenidos originalmente de Harlan. Los perros se mantuvieron en grupos de perreras en condiciones estandarizadas. El día antes del estudio los perros se distribuyeron aleatoriamente a jaulas de estudio. Se dejaron en ayunas 18 horas antes del principio y a lo largo del experimento con acceso libre al agua corriente. El peso corporal de los perros en el presente estudio estaba comprendido entre 13 y 27 kg. Después de cada experimento, se dejó que los perros se recuperarán durante al menos dos semanas.

35

Los animales se aleatorizaron a grupos de n = 6. En el punto de tiempo cero, los animales se trataron con dosis individuales del compuesto de ensayo. Se administró insulina glargina con una sola inyección subcutánea a una dosis de 0,3 UI/kg.

40 Se realizó el muestreo de sangre consecutivamente por punción de la vena del antebrazo (Vena cefálica) antes de la administración del fármaco (0 h) y posteriormente hasta 24 horas. La glucosa en sangre se determinó enzimáticamente (kit Gluco-quant® Glucose/HK en Roche/Hitachi 912).

El efecto sobre la glucosa en sangre después de la inyección subcutánea de preparaciones concentradas de diferente forma de insulina glargina, 100 y 300 unidades/ml, se ensayó en perros Beagle normoglucémicos sanos.

45 Al aumentar la concentración de insulina glargina, el tiempo medio de acción aumentaba de 6,8 h (U100) a 7,69 h (U300), respectivamente.

Al aumentar la concentración de glargina de 100 a 300 U/ml, el perfil de acción-tiempo de reducción de glucosa en sangre se cambió hacia una actividad más plana y prolongada en el perro.

Los datos actuales en perros son coherentes con los datos en seres humanos demostrando que mayores

concentraciones de fármaco de insulina glargina se correlacionan positivamente con el perfil y una mayor duración de la acción.

FIGURAS

- 5 Las figuras proporcionadas a continuación muestran eficazmente las diferencias sorprendentes e inesperadas en las exposiciones (PK) y actividad (PD) entre formulaciones Lantus U100 y Lantus U300 (insulina glargina U100 e insulina glargina U300) después de la misma dosis s.c. administrada a sujetos sanos, al mismo tiempo que era constante la glucosa en sangre (PD).

Breve descripción de los dibujos

Fig. 1: Velocidad de Infusión de Glucosa (GIR) Lantus U100

- 10 Fig. 2: Velocidad de Infusión de Glucosa (GIR) Lantus U300

Fig. 3: Concentraciones de Insulina en Suero; Lantus U100 (izquierda) y U300 (derecha)

Fig. 4: Glucosa en sangre (1/2)

Fig. 5: Glucosa en sangre (2/2)

- 15 Fig. 6: Resultados de un estudio de respuesta a la dosis, doble ciego, cruzado, de 4 secuencias, aleatorio, de 0,4, 0,6 y 0,9 U/kg de HOE-901-U300 (insulina glargina U300) en comparación con 0,4 U/kg de Lantus® U100 (insulina glargina U100) en pacientes con diabetes mellitus de tipo 1 usando la técnica de pinzamiento euglucémico. Panel superior: concentración de insulina glargina (mU/L), panel medio: glucosa en sangre (BG, mg/dL), panel inferior: velocidad de infusión de glucosa (GIR, mg.kg⁻¹.min⁻¹). Las curvas presentan medias suavizadas LOWESS de todos los puntos de datos de todos los sujetos (medias de población); LOWESS es una técnica de análisis de datos para producir una serie "uniforme" de valores a partir una serie de tiempos que se han contaminado con interferencias, o partir de un gráfico de dispersión con una relación "con interferencias" entre las dos variables.
- 20

- Fig. 7: Velocidad de infusión de glucosa (GIR, mg.kg⁻¹.min⁻¹). Las curvas presentan medias suavizadas por LOWESS de todos los puntos de datos de todos los sujetos (medias de población); LOWESS es una técnica de análisis de datos para producir una serie "uniforme" de valores a partir una serie de tiempos que se ha contaminado con interferencias, o partir de un gráfico de dispersión con una relación "con interferencias" entre las dos variables.
- 25

Leyendas: Perfiles 1 a 3 (de la parte superior a la inferior)

Resultados de un estudio de respuesta a la dosis de grupos paralelos, doble ciego, aleatorio de 0,4, 0,6 y 1,2 U/kg de Lantus® U100 (insulina glargina U100) en pacientes con diabetes mellitus de tipo 1 usando la técnica de pinzamiento euglucémico.

- 30 *Leyendas: Perfiles 4 a 7 (desde la parte superior a inferior)*

Resultados de un estudio de respuesta a la dosis, doble ciego, cruzado, de 4 secuencias, aleatorio de 0,4, 0,6 y 0,9 U/kg de HOE-901-U300 (insulina glargina U300) en comparación con 0,4 U/kg de Lantus® U100 (insulina glargina U100) en pacientes con diabetes mellitus de tipo 1 usando la técnica de pinzamiento euglucémico.

- 35 Fig. 8: Gráficos de microscopía óptica de precipitados de formulaciones de insulina glargina con concentraciones crecientes:

A: 100 U/mL, B: 300 U/mL, C: 500 U/mL; D: 700 U/mL y E: 1000 U/mL, con ampliación 100x e incluyendo los diámetros máximos.

Todas las precipitaciones se realizan con 60U de insulina glargina.

Fig. 9: Perfil de acción en el tiempo de insulina glargina U-100 frente a U-300 en perros normoglucémicos.

- 40 *Lista de abreviaturas*

°C	Grados Centígrados
ABE	Bioequivalencia Media
AE	Acontecimiento Adverso
ALT	Alanina Aminotransferasa
aPPT	Tiempo de Tromboplastina Parcial activada

ARF	Insuficiencia Renal Aguda
AST	Aspartato Aminotransferasa
□-HCG	Beta Coriogonadotropina Humana
lpm	latidos por minuto
cm	centímetro
CPK	Creatinina Fosfoquinasa
CRF	Cuaderno de Recogida de Datos
DRF	Formulario de Resolución de Discrepancias
ECG	Electrocardiograma
EOS	Final de estudio (visita)
GCP	Buena Práctica Clínica
GGT	Gamma-glutamyl transferasa
Hb	Hemoglobina
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HBs	Superficie de Hepatitis B
Hct	Hematocrito
VHC	Virus de Hepatitis C
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana
HR	Ritmo cardíaco
DCI	Denominación Común Internacional
INR	Relación Normalizada Internacional (tiempo de protrombina)
IP	Producto de Investigación
IRB/IEC	Consejo de Revisión Institucional/Comité de Ética Independiente
Kg	Kilogramo
LOQ	Límite de Cuantificación
PT	Tiempo de Protrombina
QTc	Intervalo QT corregido automáticamente por la máquina ECG
QTcB	Intervalo QT corregido por la fórmula de Bazett
QTcF	Intervalo QT corregido por la fórmula de Fridericia
QTcN	Intervalo QT corregido por una estrategia de población
QTcNi	Intervalo QT corregido por estrategia de población individual
RBC	Recuento de Glóbulos Rojos
SBP	Presión Sanguínea Sistólica
SCR	Selección (visita)
UDS	Exploración de Drogas en Orina
ULN	Límite Superior de intervalo Normal

WBC

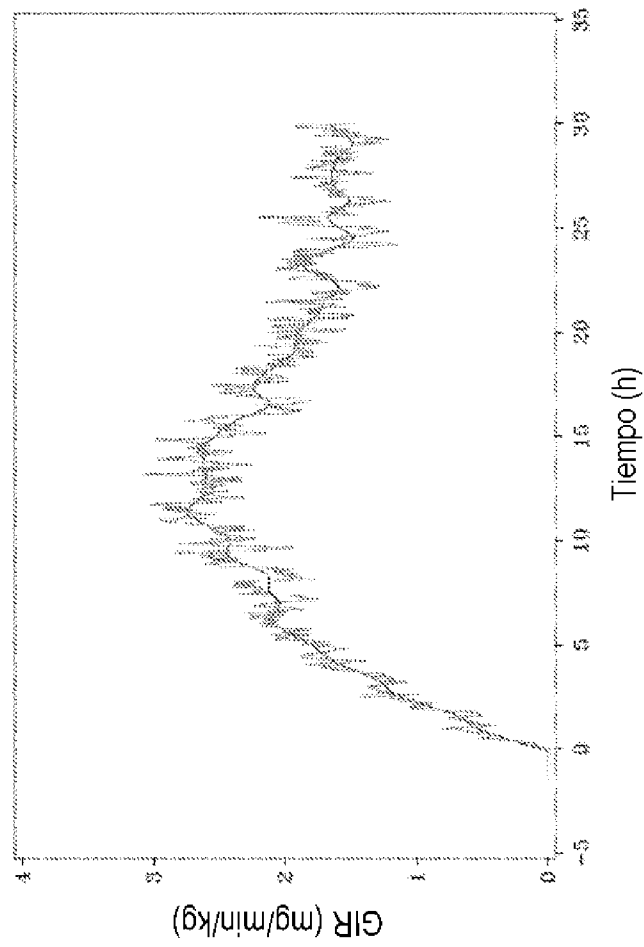
Recuento de Glóbulos Blancos

REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica acuosa con pH entre 3,4 y 4,6 que comprende insulina glargina, en donde la concentración de insulina glargina es de 270-330 U/mL, que es equimolar a 270-330 IV de insulina humana, y que además comprende en el intervalo de 20 - 400 µg/ml de cinc.
- 5 2. La formulación acuosa de la reivindicación 1 que comprende un análogo de exendina-4 seleccionado del grupo que comprende lixisenatida, exenatida y liraglutida.
3. La formulación acuosa de la reivindicación 2, que comprende de 0,1 µg a 10 µg de lixisenatida por U de insulina glargina.
- 10 4. La formulación acuosa de la reivindicación 3, que comprende de 0,2 µg a 1 µg de lixisenatida por U de insulina glargina.
5. La formulación acuosa de la reivindicación 4, que comprende de 0,25 µg a 0,7 µg de lixisenatida por U de insulina glargina.
6. La formulación acuosa de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende uno o más excipientes seleccionados entre un grupo que comprende m-cresol, glicerol, polisorbato 20 y sodio.
- 15 7. La formulación acuosa de la reivindicación 6, que comprende 90 µg/mL de cinc, 2,7 mg/mL de m-cresol y 20 mg/mL de glicerol al 85%.
8. La formulación acuosa de la reivindicación 6, que comprende 90 µg/mL de cinc, 2,7 mg/mL de m-cresol, 20 µg/mL de polisorbato 20 y 20 mg/mL de glicerol al 85%.
9. La formulación acuosa de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el pH es 4.
- 20 10. La formulación acuosa de cualquiera las reivindicaciones 1 a 8, en donde el pH es 4,5.
11. Una formulación farmacéutica acuosa con pH entre 3,4 y 4,6 que comprende insulina glargina para uso en el tratamiento de la Diabetes Mellitus de Tipo I y Tipo II en un paciente, en donde la concentración de insulina glargina es de 270-330 U/mL, que es equimolar a 270-330 IV de insulina humana, y que comprende además en el intervalo de 20 - 400 µg/mL de cinc.
- 25 12. La formulación acuosa para uso de la reivindicación 11, en donde dicha composición farmacéutica comprende además excipientes seleccionados del grupo que consiste en m-cresol, glicerol, polisorbato 20 y sodio.
13. La formulación acuosa para uso de la reivindicación 11, en donde dicha composición farmacéutica comprende además de 0,1 µg a 10 µg de lixisenatida por U de insulina glargina.
- 30 14. Una formulación farmacéutica acuosa con pH entre 3,4 y 4,6 que comprende insulina glargina para uso en prolongar la duración de la exposición a insulina de acción prolongada en el tratamiento de la Diabetes Mellitus de Tipo I y Tipo II en un paciente, en donde la concentración de insulina glargina es de 270-330 U/mL, que es equimolar a 270-330 IV de insulina humana, y que comprende además en el intervalo de 20 - 400 µg/mL de cinc.
15. La formulación acuosa para uso de la reivindicación 14, en donde dicha composición farmacéutica comprende además excipientes seleccionados del grupo que consiste en m-cresol, glicerol, polisorbato 20 y sodio.
- 35 16. La formulación acuosa para uso de la reivindicación 14, en donde dicha composición farmacéutica comprende además de 0,1 µg a 10 µg de lixisenatida por U de insulina glargina.
17. Una formulación farmacéutica acuosa con pH entre 3,4 y 4,6 que comprende insulina glargina para uso en reducir la incidencia de hipoglucemia en el tratamiento de la Diabetes Mellitus de Tipo I y Tipo II en un paciente con una insulina de acción prolongada, en donde la concentración de insulina glargina es de 270-330 U/mL, que es equimolar a 270-330 IV de insulina humana, y que comprende además en el intervalo de 20 - 400 µg/mL de cinc.
- 40 18. La formulación acuosa para uso de la reivindicación 17, en donde dicha composición farmacéutica comprende además excipientes seleccionados del grupo que consiste en m-cresol, glicerol, polisorbato 20 y sodio.
19. La formulación acuosa para uso de la reivindicación 17, en donde dicha composición farmacéutica comprende además de 0,1 µg a 10 µg de lixisenatida por U de insulina glargina.
- 45 20. Una formulación farmacéutica acuosa con pH entre 3,4 y 4,6 que comprende insulina glargina para uso en proporcionar una insulina basal de acción prolongada sin picos en el tratamiento de la Diabetes Mellitus de Tipo I y Tipo II en un paciente, en donde la concentración de insulina glargina es de 270-330 U/mL, que es equimolar a 270-330 IV de insulina humana, y que comprende además en el intervalo de 20 - 400 µg/mL de cinc.

21. La formulación acuosa para uso de la reivindicación 20, en donde dicha composición farmacéutica comprende, además, excipientes seleccionados del grupo que consiste en m-cresol, glicerol, polisorbato 20 y sodio.
22. La formulación acuosa para uso de la reivindicación 20, en donde dicha composición farmacéutica comprende, además, de 0,1 µg a 10 µg de lixisenatida por U de insulina glargina.
- 5 23. La formulación acuosa de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para uso en el tratamiento de Diabetes Mellitus de Tipo I y la Diabetes Mellitus de Tipo II.

Fig. 1: Velocidad de Infusión de Glucosa (GIR) Lantus U100



Velocidad de Infusión de Glucosa
(Perfiles medio de partida y medio suavizado)
Tratamiento = Lantus® U100

Fig. 2: Velocidad de Infusión de Glucosa (GIR) Lantus U300

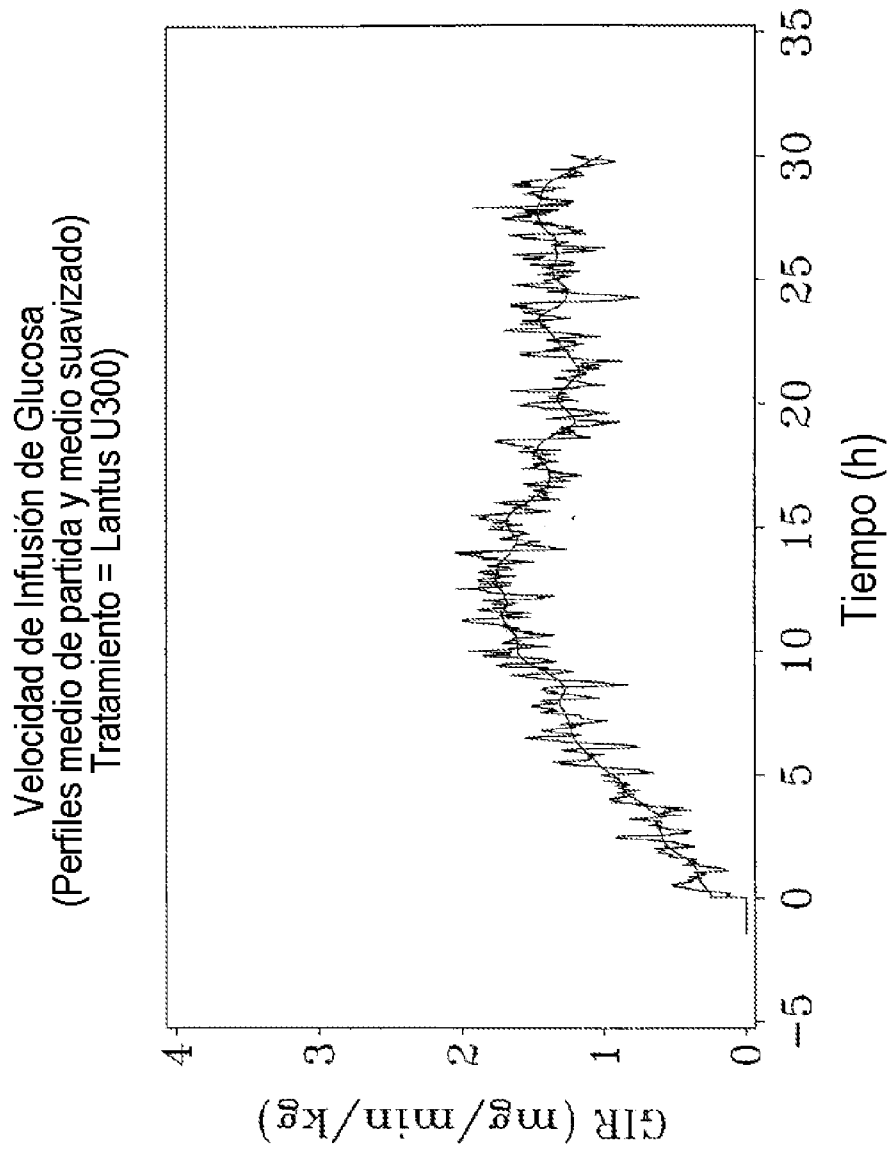


Fig. 3 (1/2)

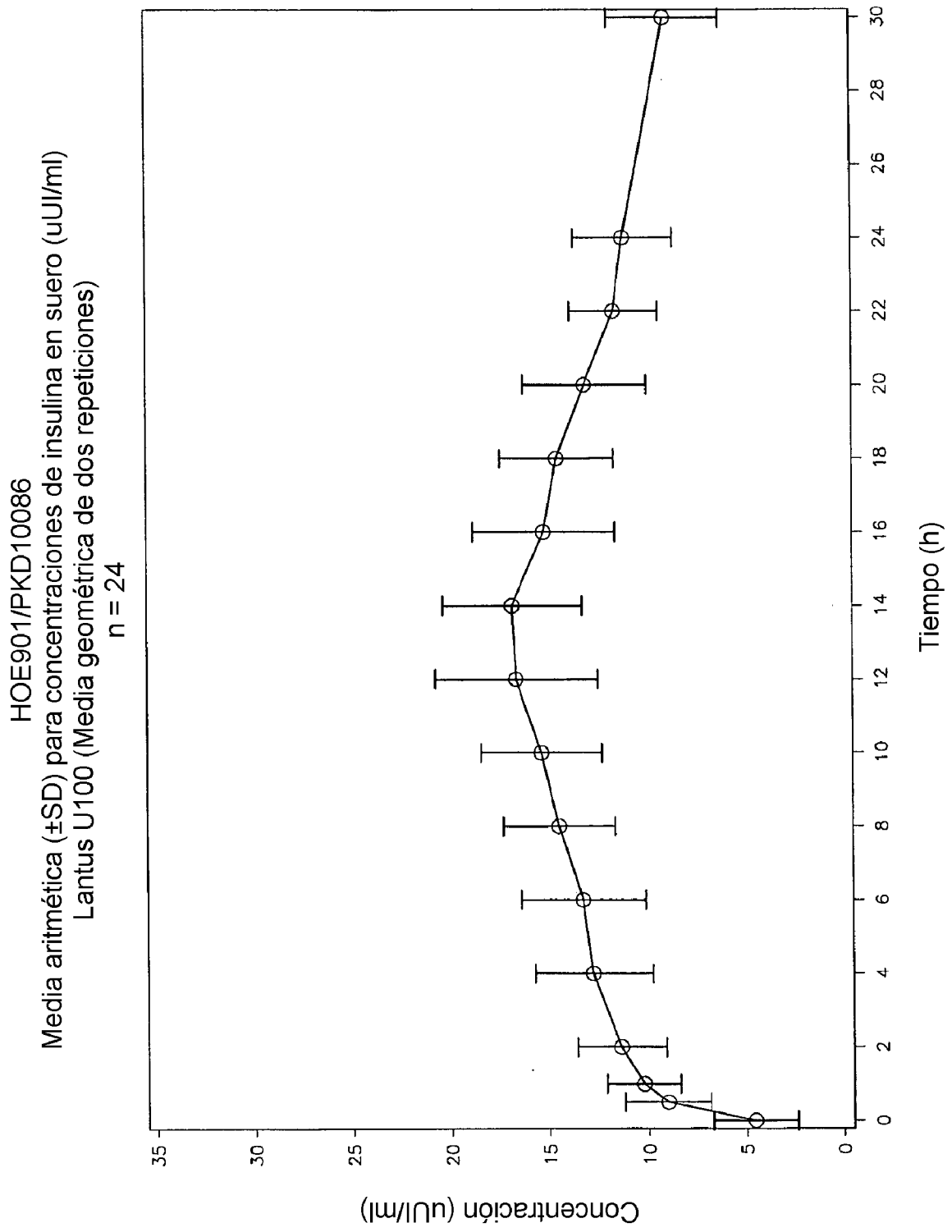


Fig. 3 (2/2)

HOE901/PKD10086

Media aritmética (\pm SD) para concentraciones de insulina en suero (uUI/ml)

Lantus U300 (Repetición 1)

n = 23

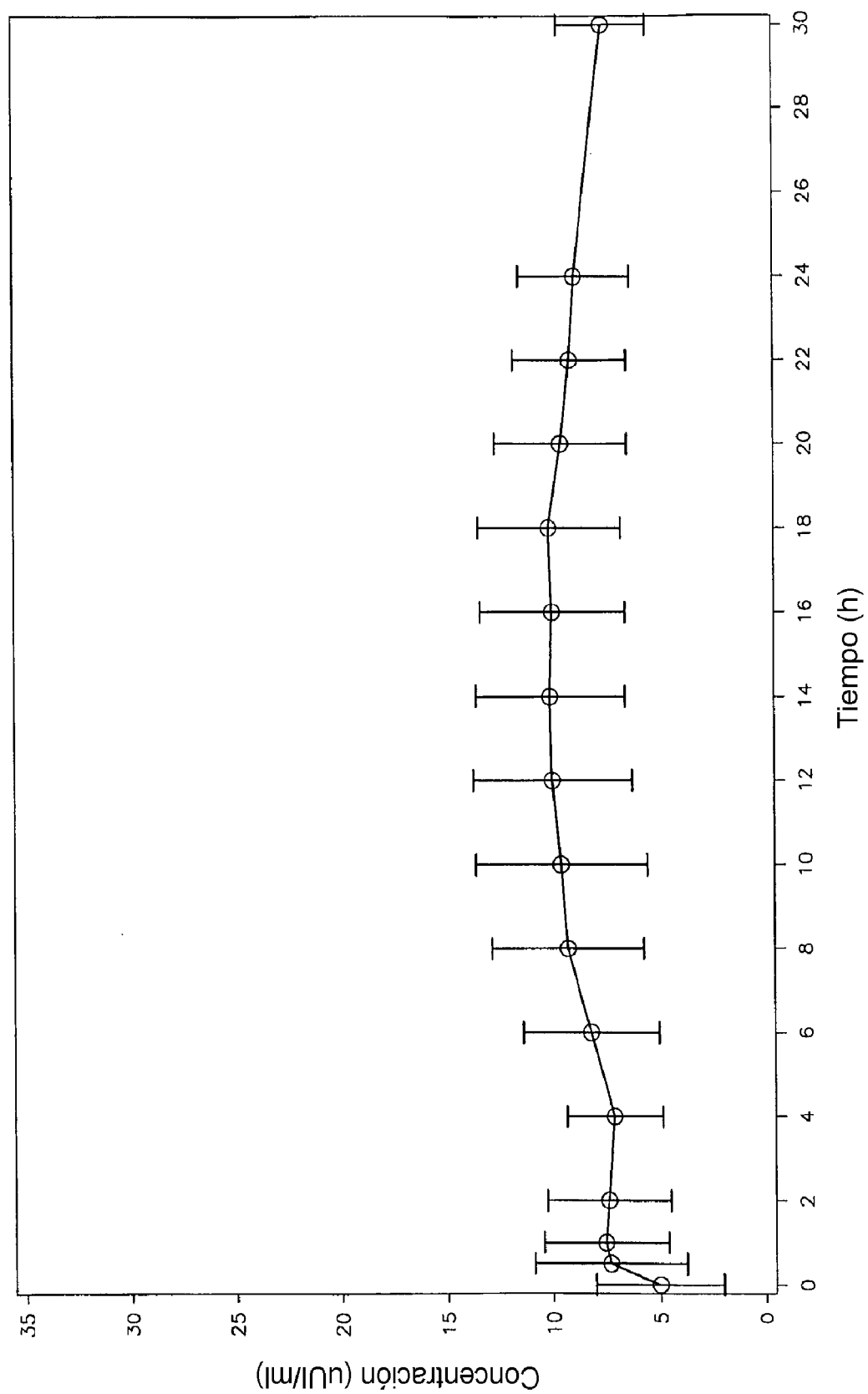


Fig. 4: Glucosa en sangre (1/2)

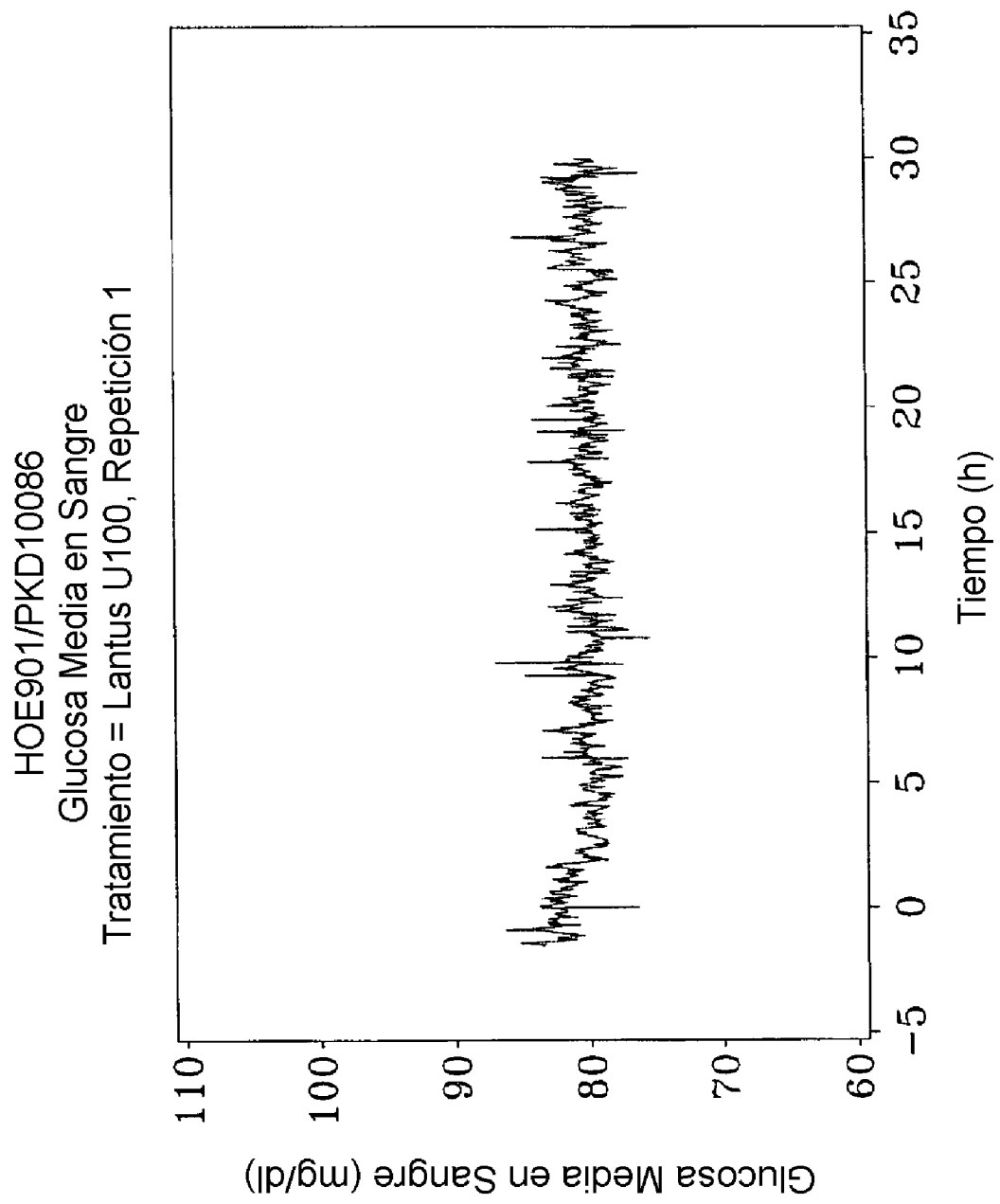


Fig. 4: Glucosa en sangre (2/2)

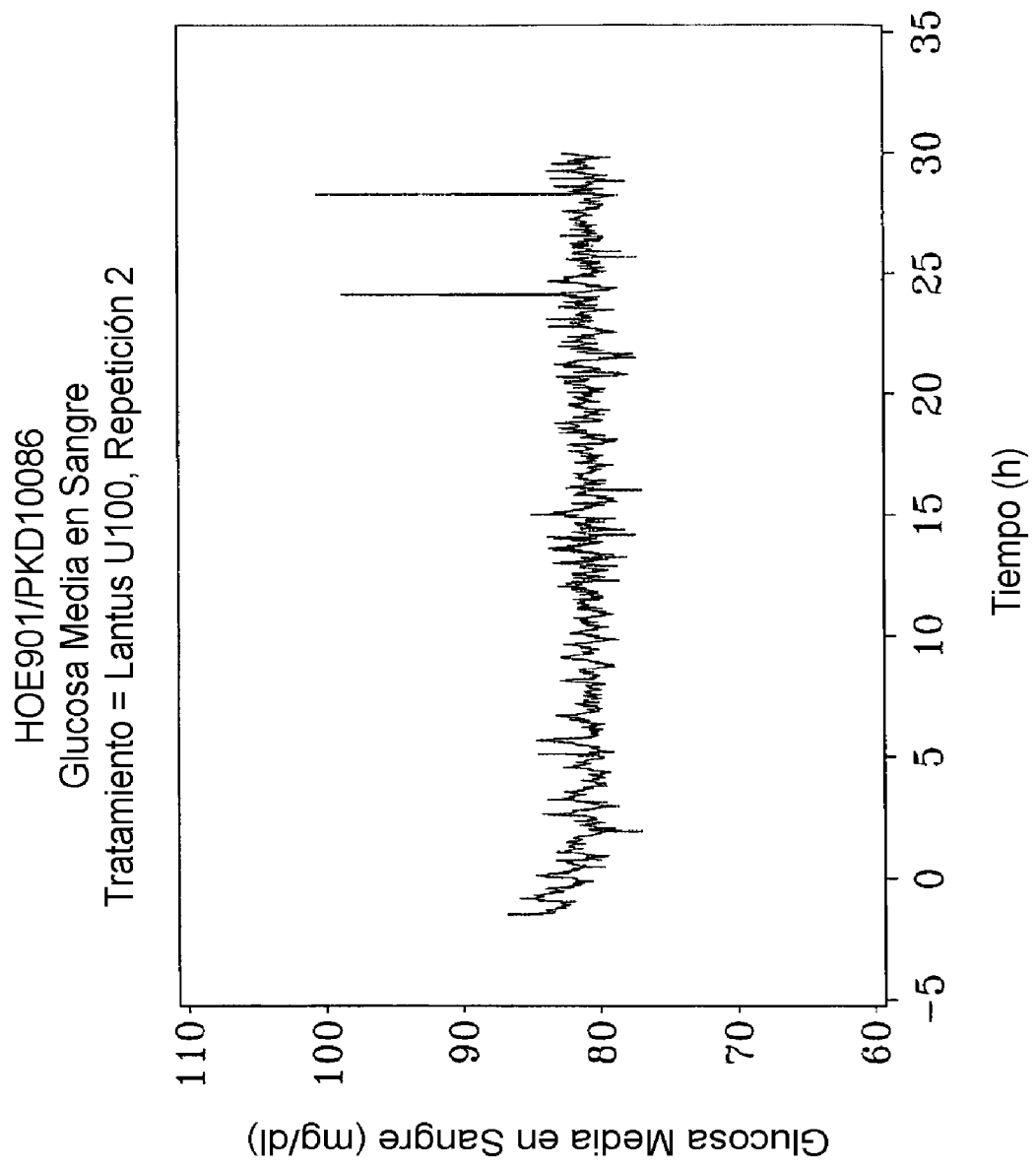


Fig. 5: Glucosa en sangre (1/2)

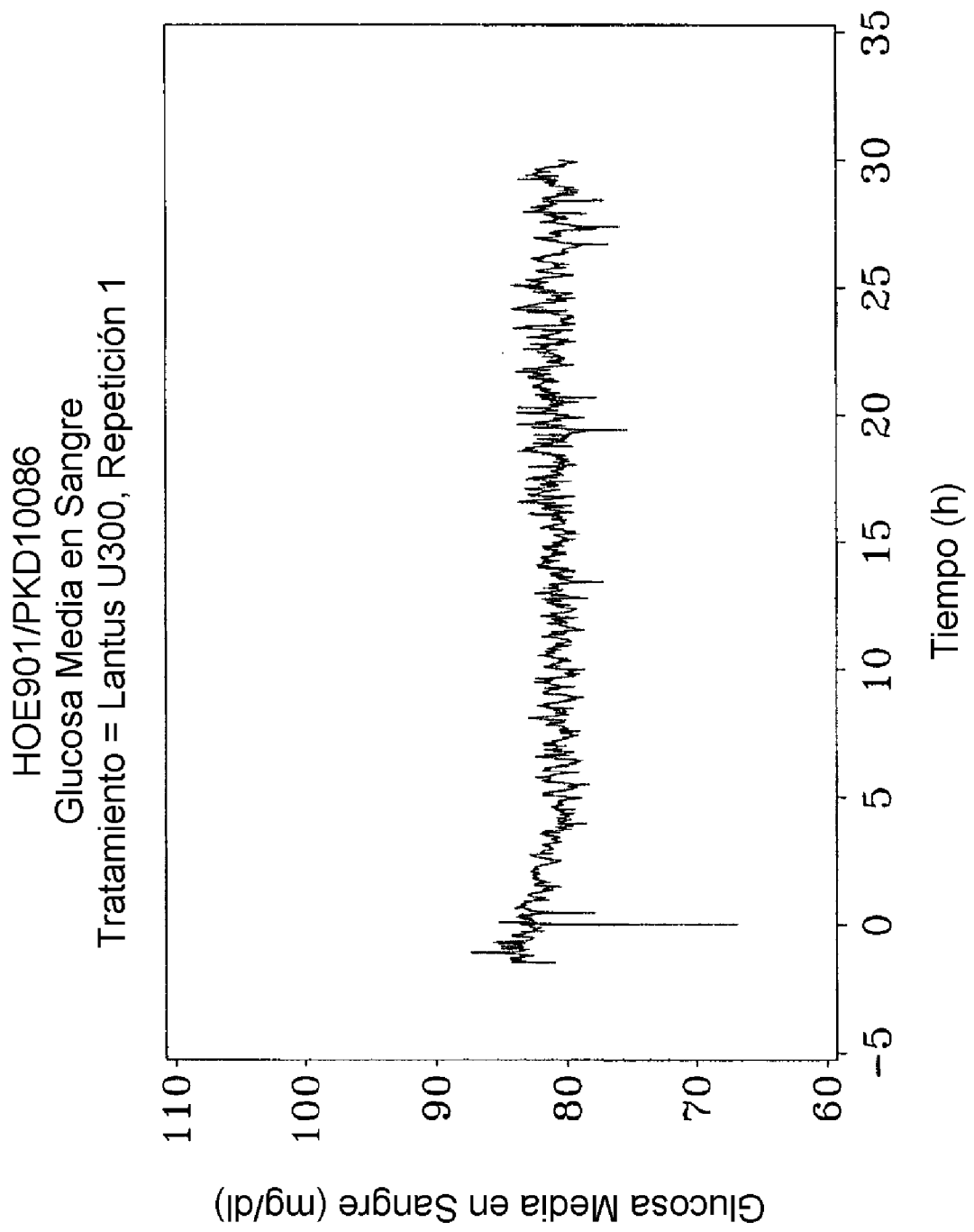


Fig. 5: Glucosa en sangre (2/2)

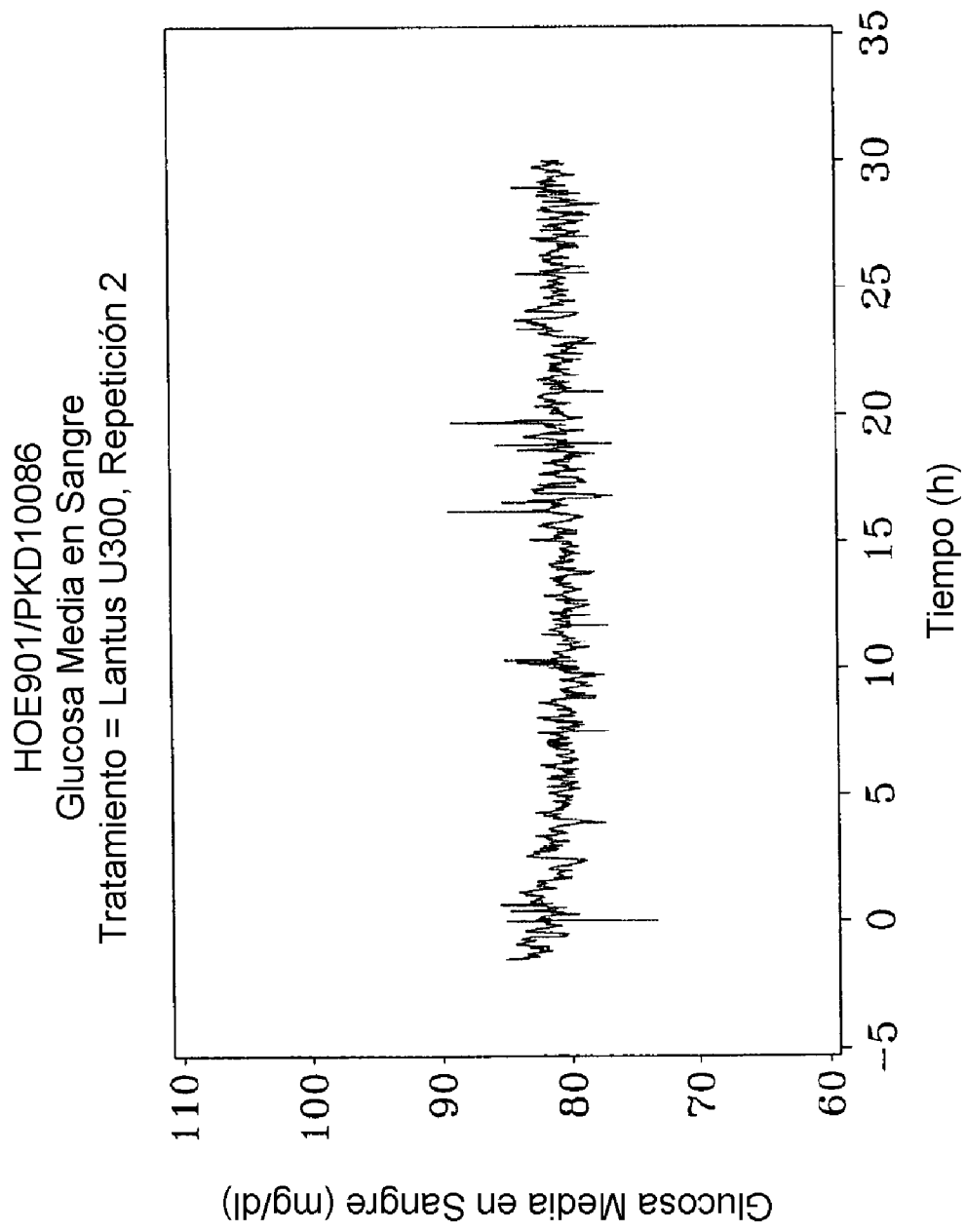
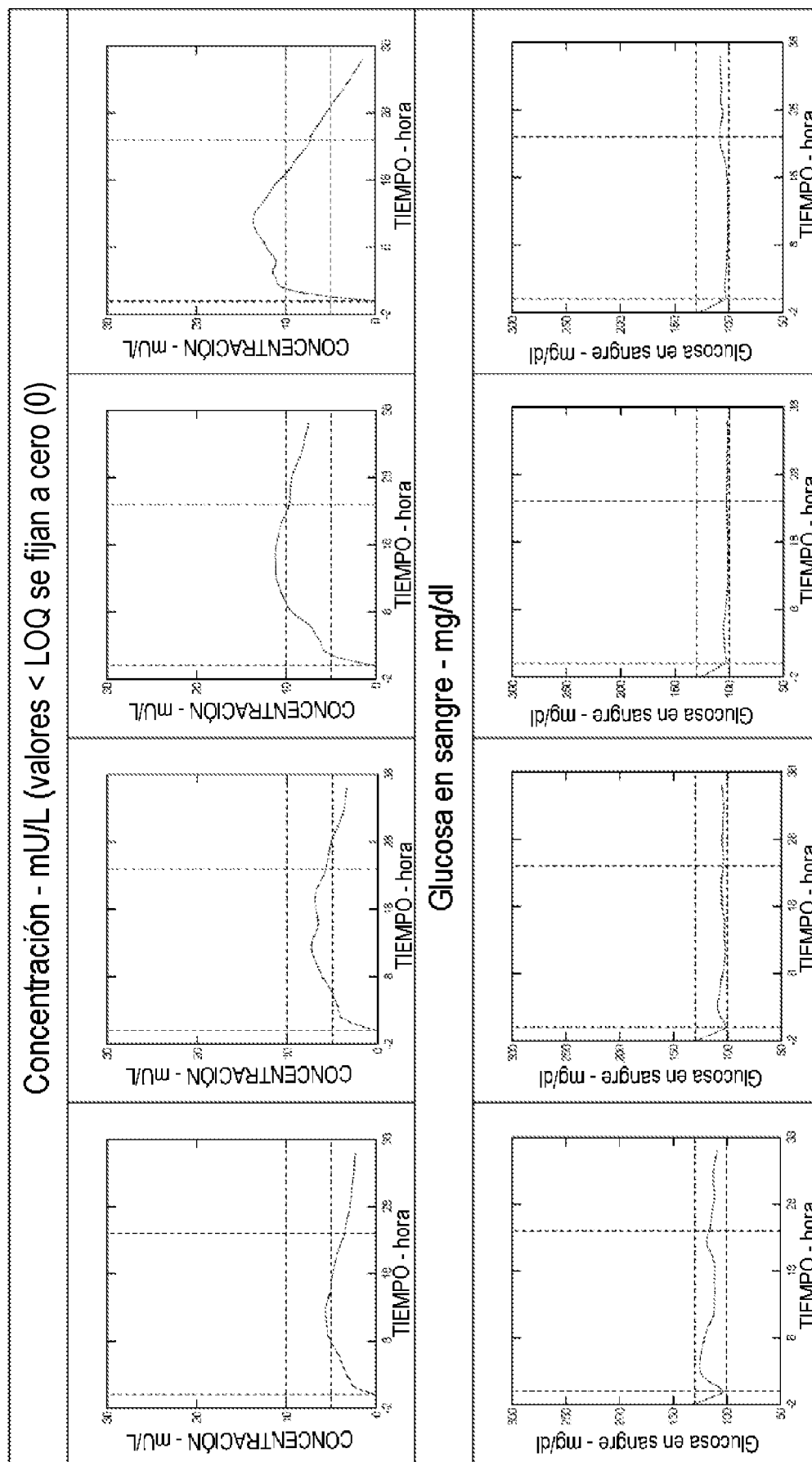
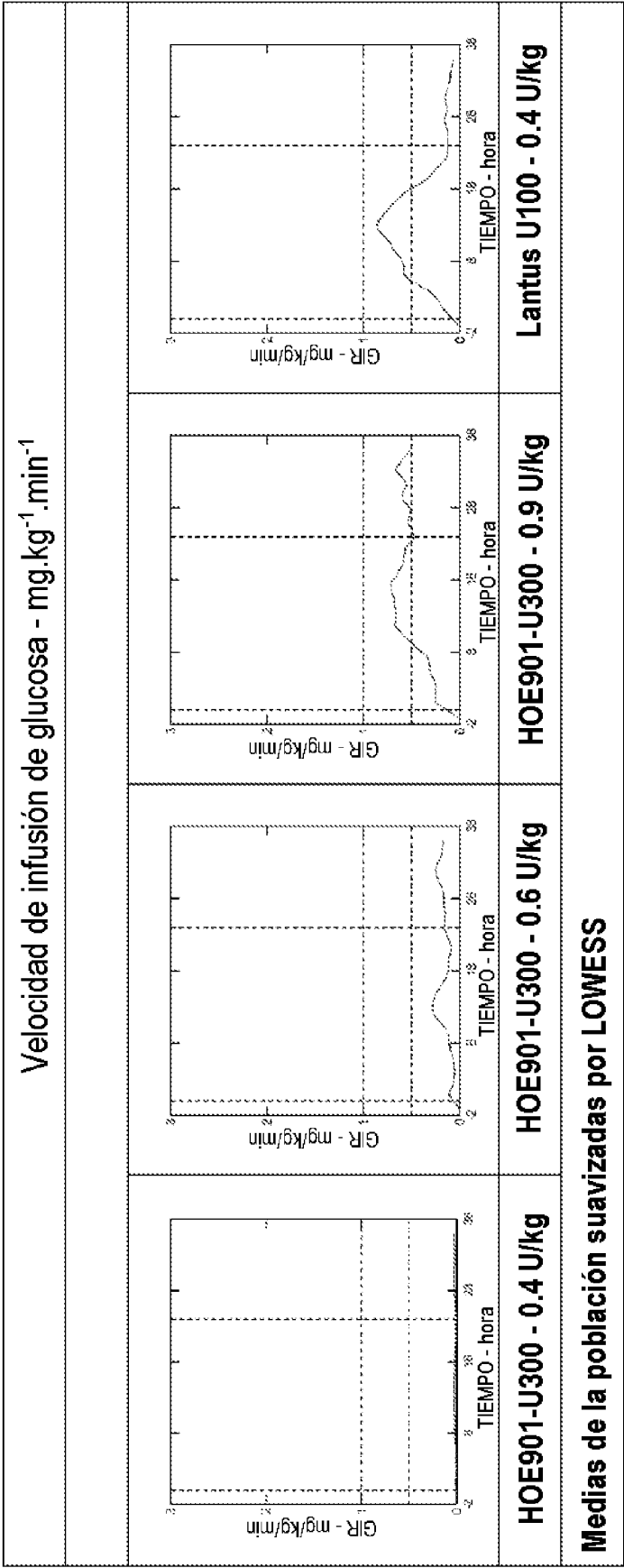


Fig. 6:





(Fig. 6 continuación)

Fig. 7

Lantus y HOE901-U300 Perfiles de GIR

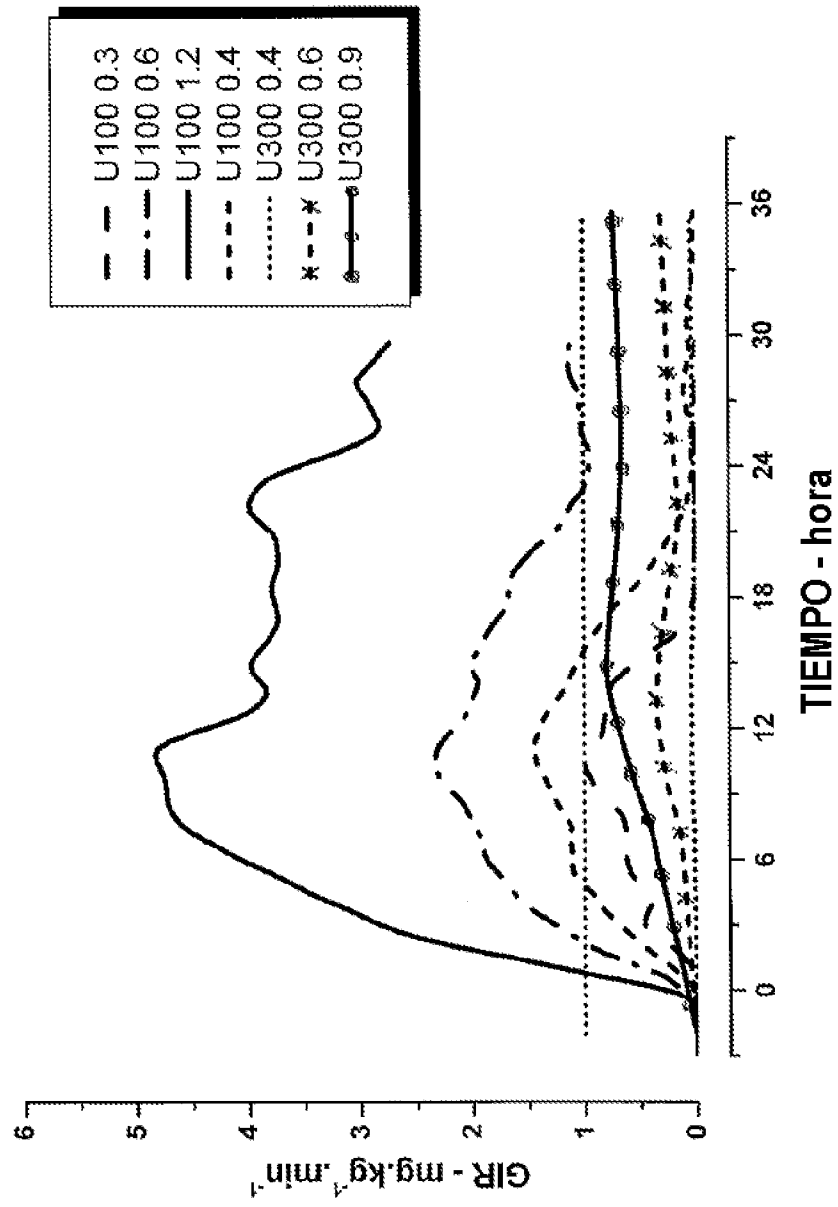


Fig. 8

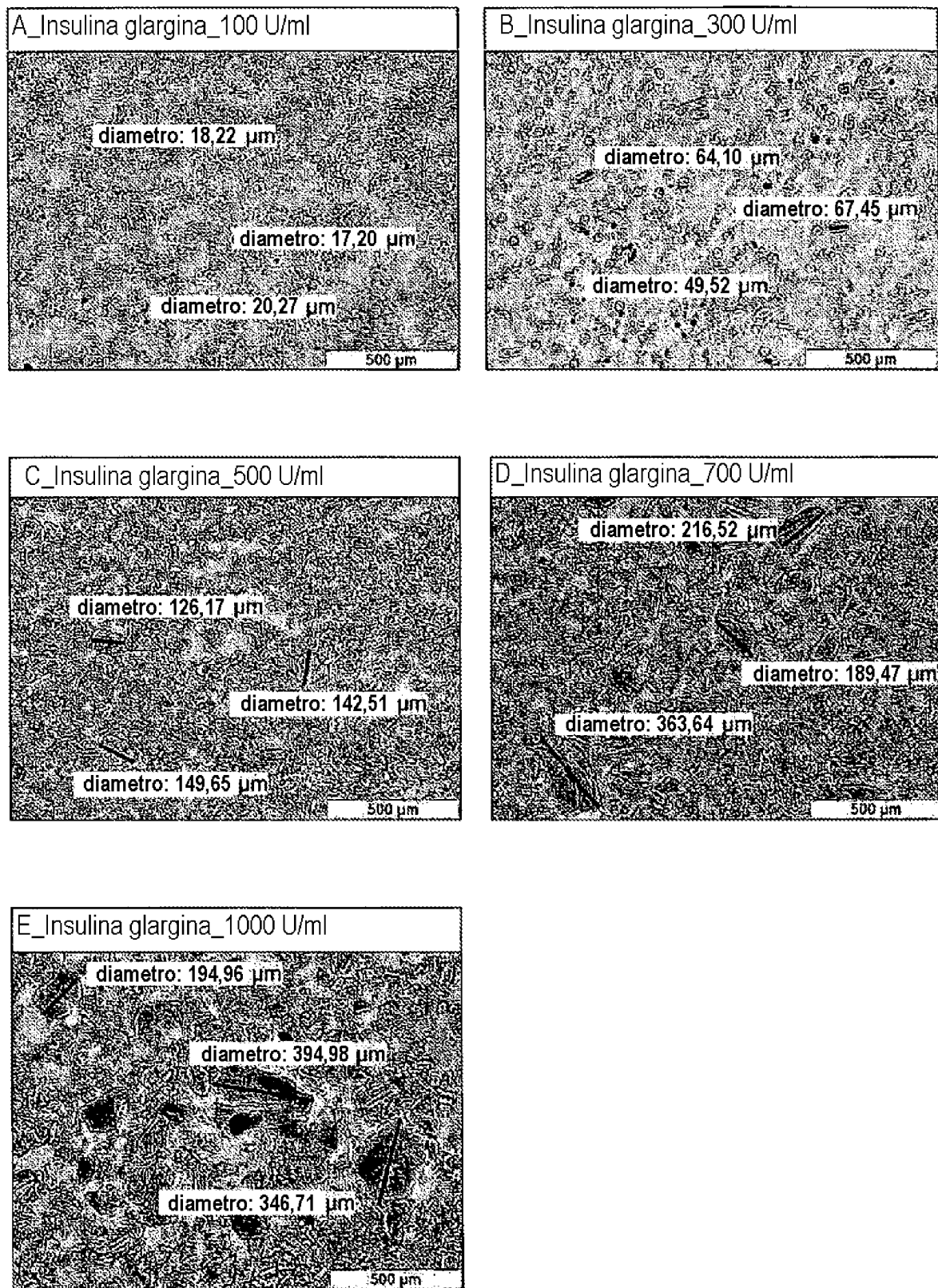
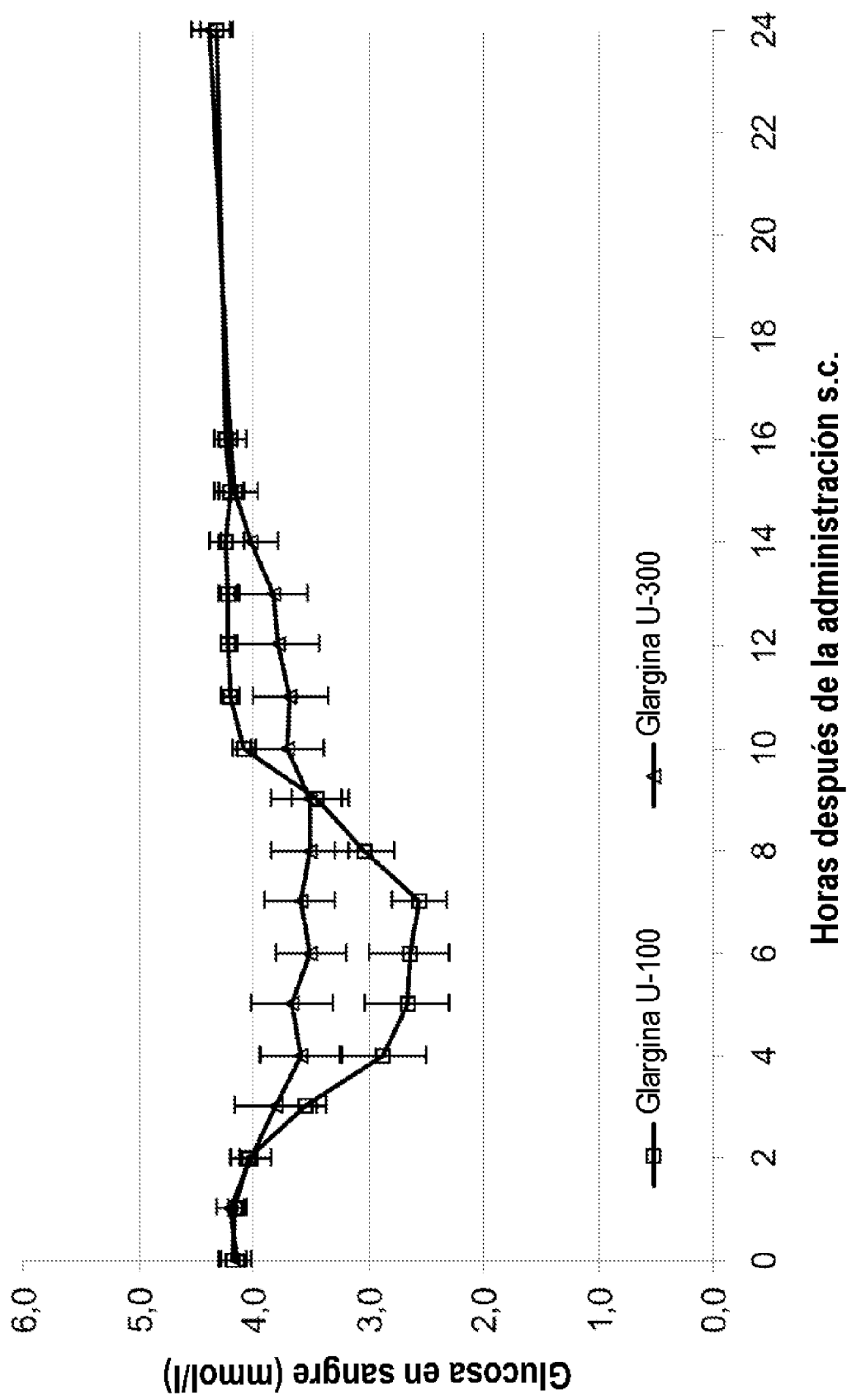


Fig. 9



D080515