

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 887 723**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.05.2016 PCT/US2016/033837**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2016 WO16191395**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.05.2016 E 16800621 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.07.2021 EP 3297654**

54 Título: **Tratamiento de hipoglucemia posbariátrica con exendina(9-39)**

30 Prioridad:

22.05.2015 US 201562165743 P

11.11.2015 US 201562254175 P

29.04.2016 US 201662329850 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.12.2021

73 Titular/es:

**THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND
STANFORD JUNIOR UNIVERSITY (100.0%)
Office of the General Counsel, Building 170, Third
Floor, Main Quad, P.O. Box 20386
Stanford, CA 94305-2038, US**

72 Inventor/es:

**MCLAUGHLIN, TRACEY L. y
CRAIG, COLLEEN M.**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 887 723 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Tratamiento de hipoglucemia posbariátrica con exendina(9-39)

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un antagonista del receptor del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP1A), en particular, a exendina(9-39), para su uso en el tratamiento y la profilaxis de hipoglucemia, particularmente hiperinsulinemia posbariátrica y más generalmente hipoglucemia hiperinsulinémica de cualquier origen, y en la prevención de síntomas agudos y desenlaces crónicos asociados. La exendina(9-39) se administra por vía subcutánea en una dosis terapéuticamente eficaz. Por tanto, la invención se refiere a los campos de biología, química, química medicinal, medicina, biología molecular y farmacología.

15 **Antecedentes de la invención**

La derivación gástrica en Y de Roux (RYGB), ampliamente realizada para la obesidad médicamente complicada, cura la diabetes de tipo 2 en el 85% de los casos. Los mecanismos fisiológicos que median la resolución de la diabetes son controvertidos, pero la reducción de las fluctuaciones de glucosa antes de la pérdida de peso ha llevado a postular que la hormona incretina, péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1), puede desempeñar un papel importante. El GLP-1 estimula la secreción de insulina por las células beta pancreáticas y es responsable del efecto "incretina": las hormonas incretinas potencian la secreción de insulina dependiente de la glucosa, de tal manera que las células beta pancreáticas secretarán más insulina después de una carga de glucosa oral que después de una carga de glucosa i.v. isoglucémica. La secreción potenciada de GLP-1 después de la RYGB, y una elevación resultante en la secreción de insulina, pueden desempeñar un papel principal en la resolución de la diabetes después de la RYGB. De hecho, se han desarrollado análogos de GLP-1 para tratar la diabetes.

Sin embargo, como el uso de procedimientos de cirugía bariátrica continúa aumentando en todo el mundo, se notifica cada vez más una complicación grave, la hipoglucemia hiperinsulinémica. Presente en el 1-6% de pacientes sometidos a RYGB, este trastorno conduce a hipoglucemia sintomática grave que suele afectar a los pacientes múltiples veces al día, con concentraciones de glucosa lo suficientemente bajas (20-40 mg/dl) como para provocar convulsiones, alteración del estado mental, pérdida de conocimiento, deterioro cognitivo, incapacidad y muerte. La calidad de vida se ve gravemente disminuida, y muchos pacientes no pueden cuidar de sí mismos ni de otros, trabajar, conducir o quedarse solos. No existe ningún tratamiento eficaz, y los casos graves se han tratado con pancreatomecía casi total o total, lo que da como resultado diabetes dependiente de insulina y está asociado con un riesgo de mortalidad quirúrgica del 6%.

SALEHI, M *et al.*, Blockade of Glucagon-like Peptide 1 Receptor Corrects Postprandial Hypoglycemia After Gastric Bypass, *Gastroenterology* 146, páginas 669-680, 1014; <DOI: 10.1053/j.gastro.2013.11.044>; resumen; página 669, columna 1, párrafo 1, dan a conocer una infusión i.v. de exendina(9-39) en pacientes con hipoglucemia hiperinsulinémica sometidos a cirugía de derivación gástrica a una dosis de 7500 pmol/kg.

Dada la gravedad de este trastorno crónico con necesidad clínica insatisfecha, se necesita urgentemente un tratamiento terapéutico eficaz. Por tanto, sería útil proporcionar el tratamiento de hipoglucemia hiperinsulinémica tras cirugía bariátrica y la prevención de sus síntomas agudos y desenlaces crónicos, y una composición farmacéutica para tal tratamiento terapéutico.

45 **Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a exendina(9-39) para su uso en el tratamiento o la prevención de hipoglucemia hiperinsulinémica en un paciente, que comprende la inyección subcutánea dos veces al día (BID) de una composición que comprende 10-30 mg de exendina(9-39). La administración dos veces al día es generalmente una primera administración por la mañana y una segunda administración por la noche. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de exendina(9-39) administrada dos veces al día está en el intervalo de 10-20 mg (por ejemplo, 10 mg, 15 mg o 20 mg), en el intervalo de 10 mg-15 mg (por ejemplo, 10 mg o 15 mg) o en el intervalo de 15 mg-30 mg (por ejemplo, 15 mg, 20 mg, 25 mg o 30 mg). La composición que contiene exendina(9-39) puede ser una disolución o suspensión que comprende exendina(9-39) a una concentración en el intervalo de 4-20 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración está en el intervalo de 10-20 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración está en el intervalo de 8-16 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración está en el intervalo de 13-16 mg/ml.

En algunos enfoques, la composición, o el líquido inyectado, administrada en la administración por la mañana y la composición, o el líquido inyectado, administrada en la administración por la noche son iguales, es decir, contienen la misma cantidad (dosis) de exendina(9-39) a la misma concentración. En otro enfoque, la administración subcutánea dos veces al día comprende administrar un líquido inyectado de la mañana y un líquido inyectado de la noche, en la que la cantidad y/o concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es mayor que la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana. En un enfoque, la

cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es mayor que la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana. En un enfoque, la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es mayor que la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana.

5 En algunos casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es 5 mg-10 mg mayor que la cantidad en el líquido inyectado de la mañana. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 10 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la noche es de 15 mg. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 10 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la noche es de 20 mg. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 15 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la noche es de 20 mg. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 15 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la noche es de 25 mg. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 20 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la noche es de 25 mg. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 20 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la mañana es de 20 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la noche es de 30 mg.

En algunos casos, la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana no es la misma que la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche. Por ejemplo, en un enfoque, la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 15 mg/ml y la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es de 20 mg/ml.

En algunos casos, la cantidad y concentración de exendina(9-39) de los líquidos inyectados de la mañana y de la noche se seleccionan de tal manera que el T_{máx} de exendina(9-39) después de la administración de la noche es más prolongado que el T_{máx} después de la administración de la mañana.

En algunos casos, la cantidad y concentración de los líquidos inyectados de la mañana y de la noche se seleccionan de tal manera que la administración da como resultado una C_{máx} de exendina(9-39) de al menos 100 ng/ml (por ejemplo, tal como se mide mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas).

En algunos enfoques, la administración comprende una primera administración diaria por la mañana y una segunda administración diaria por la noche, en la que la segunda administración diaria es al menos 8 horas después de la primera administración diaria. En algunos de tales casos, la administración de la mañana se administra antes de la comida de la mañana (por ejemplo, el desayuno). En algunos de tales casos, la administración de la mañana se administra al menos 1 hora antes de la comida de la mañana, opcionalmente de 60 a 90 minutos antes de la comida de la mañana. En algunos casos, la administración de la mañana es en el periodo de desde una hora antes de la comida de la mañana hasta una hora después de la comida de la mañana. En algunos casos, la segunda administración diaria se administra de 60 a 90 minutos antes de la comida de la noche. En algunos casos, la segunda administración diaria se administra después de la comida de la noche y antes de irse a dormir (por ejemplo, en el plazo de 2 horas de irse a dormir). En algunos casos, la administración de la noche es de desde 9 hasta 15 horas después de la administración de la mañana.

En algunas realizaciones, una dosis de exendina(9-39) se administra con respecto al horario de una comida. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la dosis de exendina(9-39) se administra con una comida o antes de una comida particular, incluyendo, por ejemplo, un determinado tiempo, por ejemplo, de 15 minutos a dos horas, por ejemplo, una hora, antes de una comida, o un determinado tiempo después de una comida.

En algunas realizaciones, una dosis de exendina(9-39) se administra independientemente del horario de una comida.

En una realización, el paciente se autoadministra (o lleva puesto un dispositivo programado para administrar) la exendina(9-39). En algunas realizaciones, la primera dosis puede administrarse por la noche, de tal manera que proporcione protección durante el desayuno del siguiente día, con dosis posteriores a la mañana siguiente y la noche siguiente aproximadamente doce horas más tarde.

En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se formula y administra en un dispositivo de pluma inyectable o mediante una combinación vial/jeringa que puede preprogramarse o marcarse para administrar una cantidad de dosificación fija (y opcionalmente dos cantidades de dosificación fijas diferentes correspondientes a las administraciones de la mañana y de la noche) que oscilan desde 10 y 30 mg de exendina(9-39).

La exendina(9-39) para su uso según la invención tiene uso para el tratamiento y la prevención de hipoglucemia hiperinsulinémica y sus síntomas y desenlaces asociados en pacientes con hipoglucemia hiperinsulinémica tras cirugía bariátrica y tras cirugía gastrointestinal. En estas y otras realizaciones, la invención proporciona la prevención y el tratamiento de síntomas y desenlaces agudos y crónicos asociados en pacientes susceptibles. El tratamiento según la invención de pacientes que necesitan terapia mejorará la calidad de vida del paciente tanto a corto plazo como a largo plazo, reducirá la morbilidad global del paciente y puede prevenir la muerte prematura y/o prolongar la esperanza de vida.

La presente invención también se refiere al dispositivo de pluma inyectable y al kit tal como se definen en las reivindicaciones.

- 5 La presente invención no se refiere a métodos para el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

Breve descripción de los dibujos

10 Figuras 1A-B. Respuestas promedio de glucosa (A) e insulina (B) en plasma a una prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO) de 75 gramos en sujetos con hipoglucemia hiperinsulinémica durante un estudio cruzado, con enmascaramiento, aleatorizado en el que se administró una infusión intravenosa (i.v.) continua sensibilizada de exendina(9-39) (a 500 pmol/kg/min a lo largo de 180 minutos) o placebo (solución salina normal), tal como se describe en el ejemplo 1. Línea continua: infusión de placebo; línea discontinua: infusión de exendina(9-39).

15 Figuras 2A-C. Respuestas promedio de GLP-1 (A), GIP (B) y glucagón (C) en plasma a una PTGO de 75 gramos en sujetos con hipoglucemia hiperinsulinémica que reciben infusión i.v. continua sensibilizada de exendina(9-39) de 500 pmol/kg/min a lo largo de 180 minutos frente a infusión de placebo (solución salina normal), tal como se describe en el ejemplo 1. Línea continua: infusión de placebo; línea discontinua: infusión de exendina(9-39).

20 Figura 3. Respuestas sintomáticas individuales y promedio a una PTGO de 75 gramos en 8 pacientes con hipoglucemia hiperinsulinémica que reciben una infusión i.v. continua sensibilizada de exendina(9-39) frente a placebo, tal como se describe en el ejemplo 1. Se presentan la puntuación global de síntomas y las puntuaciones de aumento de glucosa y disminución de glucosa. La infusión i.v. continua de exendina(9-39) a 500 pmol/kg/min a lo largo de 180 minutos mejoró sustancialmente los síntomas de hipoglucemia, tal como se demuestra por las puntuaciones reducidas de síntomas globales y disminución de glucosa.

25 Figuras 4A-D. Respuestas de glucosa en plasma a dosis de bolo i.v. de 7.500 pmol/kg de exendina(9-39) administradas a un sujeto con hipoglucemia hiperinsulinémica en diferentes puntos de tiempo en relación con el momento de administración de glucosa en una PTGO. Específicamente, el bolo i.v. de exendina(9-39) se administró a: (A) T=0 minutos, (B) T=20 minutos o (C) T=50 minutos. Para (A)-(C), los niveles de glucosa medidos en puntos de tiempo específicos, tal como se describe en el ejemplo 2, se muestran mediante una línea continua. Para (A)-(D), la curva PK de exendina(9-39) proyectada después de la administración del bolo i.v. de 7.500 pmol/kg se muestra mediante una línea discontinua. La administración de dosis a los 0 minutos (A) o 20 minutos (B) no previno la hipoglucemia, mientras que la administración de dosis a los 50 minutos (C) sí previno la hipoglucemia. (D) El máximo de GLP-1 para el sujeto en (C) se produjo a los 60 minutos, lo que sugiere que era necesario programar la administración del bolo i.v. para coincidir con el máximo de GLP-1 en plasma para prevenir la hipoglucemia.

30 Figuras 5A-B. (A) Se representan gráficamente las concentraciones promedio de exendina(9-39) en plasma para 8 sujetos humanos a los que se les administró una infusión i.v. continua de exendina(9-39) a una velocidad de 500 pmol/kg/min a lo largo de 180 minutos (línea negra). La respuesta farmacocinética de exendina(9-39) proyectada a un único bolo i.v. de 7.500 pmol/kg de exendina(9-39) administrado a T=30 (línea azul) se extrapoló basándose en la semivida conocida de exendina(9-39) administrada por vía intravenosa. (B) Se administró un único bolo i.v. de 7.500 pmol/kg de exendina(9-39) o una única inyección subcutánea de 7.500 pmol/kg de exendina(9-39) a un sujeto. Se midieron las concentraciones de exendina(9-39) en plasma mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (CL-EM). La $C_{m\acute{a}x}$ que se observó en la administración subcutánea de exendina(9-39) fue significativamente menor que la $C_{m\acute{a}x}$ observada en la administración intravenosa de exendina(9-39).

35 50 Figura 6. Niveles promedio de glucosa en plasma durante una PTGO de 75 gramos para sujetos a los que se les administró una dosis subcutánea de exendina(9-39) en comparación con el nivel inicial. Cuatro sujetos recibieron una inyección subcutánea de 35.700 pmol/kg, 75.000 pmol/kg o 112.500 pmol/kg (aproximadamente 10, 20 ó 30 mg, respectivamente, basándose en un paciente de 80 kg) en un volumen de 0,7 ml de solución salina normal y cuatro sujetos recibieron dos o más inyecciones de 0,7 ml de 35.700 pmol/kg, 75.000 pmol/kg o 112.500 pmol/kg con el fin de mantener una concentración de líquido inyectado de 15 mg/ml o menos. El nivel mínimo promedio de glucosa en plasma para los 8 sujetos durante la inyección subcutánea de exendina(9-39) fue de 78 mg/dl frente a <50 mg/dl durante una prueba de tolerancia a la glucosa oral de nivel inicial, lo que demuestra que la inyección subcutánea de una única dosis de aproximadamente 10-30 mg de exendina(9-39) pudo revertir eficazmente la hipoglucemia hiperinsulinémica.

60 65 Figuras 7A-B. Concentraciones de exendina(9-39) en plasma tras la inyección subcutánea de exendina(9-39). (A) Tres sujetos recibieron una única inyección subcutánea de aproximadamente 10, 20 ó 30 mg de exendina(9-39) en un volumen de 0,7 ml (dosis 5x, 10x o 15x, respectivamente). (B) Cinco sujetos recibieron dosis de aproximadamente 2, 10, 20 ó 30 mg (1x, 5x, 10x o 15x, respectivamente), administrándose cada dosis a una concentración de 15 mg/ml o menos; se administraron dosis más altas mediante más de una inyección para mantener una concentración relativamente diluida.

Figura 8. Se calculó el aumento en porcentaje de las concentraciones de nivel mínimo de glucosa en plasma para las dosis administradas por vía subcutánea de exendina(9-39) en relación con el nivel inicial. Se observó una correlación entre aumentos en porcentaje mayores de las concentraciones de nivel mínimo de glucosa en plasma y las concentraciones máximas crecientes de exendina(9-39) en plasma (Cmáx).

Figura 9. Diseño del estudio para el ensayo de dosis múltiples crecientes de 3 días para evaluar la seguridad, la tolerabilidad, la eficacia y el perfil farmacocinético de exendina(9-39) BID administrada por vía subcutánea a lo largo de 3 días a pacientes con hipoglucemia hiperinsulinémica posbariátrica.

Figura 10. Concentraciones de exendina(9-39) en plasma el día 3 después de 5 dosis tal como se describe en el ejemplo 4.

Breve descripción de las tablas

Tabla 1: respuestas metabólicas a una prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO) de 75 gramos durante la infusión i.v. continua sensibilizada de exendina(9-39) en ocho pacientes posteriores a RYGB con hipoglucemia hiperinsulinémica (HH). Se presentan las respuestas metabólicas de ocho controles no quirúrgicos que coinciden en IMC, edad y género a modo de comparación. Se calcularon los valores de AUC mediante la regla del trapecio utilizando el último valor arrastrado para tener en cuenta las PTGO interrumpidas prematuramente en casos de hipoglucemia, que se produjeron únicamente durante la infusión de placebo.

Tabla 2: respuesta media de GLP-1, GIP y glucagón en plasma a una prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO) de 75 gramos en ocho pacientes con hipoglucemia hiperinsulinémica (HH) durante una infusión i.v. continua sensibilizada de exendina(9-39) de 500 pmol/kg/min a lo largo de 180 minutos frente a durante una infusión de placebo (solución salina normal).

Tabla 3: respuesta metabólica y sintomática de los sujetos a una única inyección subcutánea (s.c.) de 10-30 mg de exendina(9-39), indicada como Ex(9-39) s.c., infusión i.v. continua de exendina(9-39) (Ex(9-39) i.v.) o placebo durante una PTGO de 75 gramos. Esta tabla demuestra que la eficacia clínica durante este estudio de inyección subcutánea de SAD era comparable a la lograda durante una infusión i.v. continua de exendina(9-39), tal como se mide mediante el nivel mínimo de glucosa en plasma, el AUC de glucosa y la puntuación de disminución de síntomas.

Tabla 4: respuesta PK/PD a dosis crecientes/concentraciones crecientes. Tal como se describe en el ejemplo 3, los sujetos 2-5 recibieron, cada uno, una inyección subcutánea de exendina(9-39) en dosis que oscilaban entre 37.500 y 112.500 pmol/kg (aproximadamente 10-30 mg), cada una en un volumen de 0,7 ml, dando como resultado concentraciones de dosis de aproximadamente 15-40 mg/ml. En este caso se muestran las respuestas PK/PD de los sujetos a cada dosis. Las concentraciones de líquido inyectado de aproximadamente 15 mg/ml dieron como resultado la mayor respuesta farmacodinámica, tal como se define por el nivel mínimo posprandial de glucosa y el AUC de glucosa, y la mayor respuesta farmacocinética, tal como se define por Cmáx y DN Cmáx. Por tanto, puede preferirse una dosis relativamente diluida para una administración de dosis BID, y puede preferirse una formulación más concentrada para una administración de dosis menos frecuente o una exposición más sostenida. La dosis de 75.000 pmol/kg (17 mg) con una concentración de aproximadamente 24 mg/ml dio como resultado una respuesta farmacocinética de liberación sostenida/lenta favorable, con una semivida de 9,14 horas y una Cmáx de 70 ng/ml o más. Por tanto, puede usarse ventajosamente una dosis relativamente concentrada para una administración de dosis qD (cada día) o BID no vinculada a las comidas.

Tabla 5: respuesta PK/PD a dosis crecientes con concentración de líquido inyectado constante. Tal como se describe en el ejemplo 3, cuatro sujetos recibieron inyecciones subcutáneas de 37.500-112.500 pmol/kg de exendina(9-39) en concentraciones equivalentes (aproximadamente 13-16 mg/ml), ya que se halló que esta concentración daba como resultado una formulación de liberación inmediata favorable para el uso según la invención. Los resultados mostrados demuestran una respuesta PK cada vez más favorable con dosis crecientes, tal como se define por Cmáx y T_{1/2}.

Tabla 6: respuesta PK/PD en cuatro sujetos dosificados con dosis variables de exendina(9-39) administrada por vía subcutánea BID en un ensayo clínico de 3 días tal como se describe en el ejemplo 4.

Descripción detallada de la invención

1. Introducción

La hipoglucemia hiperinsulinémica posbariátrica es un trastorno que se caracteriza por glucemia baja e insulinemia elevada 1-3 horas después de las comidas. El trastorno se manifiesta como síntomas neuroglucopénicos (tales como aturdimiento, falta de concentración, cansancio, ataxia, parálisis, convulsiones o pérdida de conocimiento), síntomas vasomotores (tales como sudación y temblores) y/o síntomas adrenérgicos

(tales como palpitations cardiacas). Aunque la patogenia de la hipoglucemia hiperinsulinémica posbariátrica no se entiende por completo, se han propuestos varios mecanismos, incluyendo secreción aumentada de hormonas intestinales incretinas insulínótropicas a partir del intestino distal, expansión de la masa de células β , sensibilidad potenciada de las células β , sensibilidad aumentada a la insulina, aclaramiento disminuido de insulina, capacidad reducida para organizar una respuesta contrarreguladora al glucagón y ausencia de un factor prodiabético/decretina en el intestino proximal.

Tal como se describe en el ejemplo 1, en pacientes que padecen hipoglucemia hiperinsulinémica después de cirugía de derivación gástrica, el bloqueo del receptor del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) mediante la administración por infusión intravenosa (i.v.) continua sensibilizada de exendina(9-39) revirtió eficazmente la hipoglucemia hiperinsulinémica y los síntomas asociados. En este ensayo, los pacientes recibieron una dosis total de aproximadamente 24-39 mg de exendina(9-39), variando la cantidad de fármaco en función del peso del paciente. (Véase también Salehi *et al.*, 2014, "Blockade of Glucagon-like Peptide 1 Receptor Corrects Postprandial Hypoglycemia After Gastric Bypass", *Gastroenterology* 146:669-680). Sin embargo, puesto que la hipoglucemia hiperinsulinémica posbariátrica es un trastorno crónico de por vida, la administración de una infusión i.v. continua de exendina(9-39) no es una opción práctica de tratamiento.

La exendina(9-39) administrada por vía intravenosa se caracteriza por una semivida en plasma corta de 33 minutos (véase, Gardiner *et al.*, *JPET* 316:852-859 (2006); véase también, Edwards *et al.*, *Diabetes* 48:86-93 (1999)). Tal como se describe en el ejemplo 2 a continuación, la exendina(9-39) administrada como un único bolo i.v. de 7.500 pmol/kg previno la hipoglucemia en pacientes únicamente si el bolo estaba programado para coincidir estrechamente con las concentraciones máximas de GLP-1 en plasma. Las propiedades farmacocinéticas mostradas a partir de la administración de una única dosis intravenosa de exendina(9-39) son de tal manera que un experto habitual en la técnica no habría esperado que la administración subcutánea de dosis clínicamente apropiadas de exendina(9-39) fuera terapéuticamente eficaz en el tratamiento de hipoglucemia hiperinsulinémica posprandial.

Tal como se detalla en el presente documento, se ha demostrado sorprendentemente que la administración de exendina(9-39) mediante inyección subcutánea (s.c.) dos veces al día (BID) puede prevenir eficazmente la hipoglucemia en pacientes que padecen hipoglucemia hiperinsulinémica posbariátrica, que tal prevención se produce a una dosis de 30 mg o más baja (por ejemplo, en el intervalo de 7,5 mg-20 mg, por ejemplo, 10 mg-15 mg), que tal prevención puede lograrse usando una pauta de administración conveniente no necesariamente vinculado a las horas de comida y que la farmacocinética de la administración s.c. de exendina(9-39) puede ajustarse basándose en la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado, así como en la dosis, para lograr un tratamiento eficaz. Véanse el ejemplo 3 y el ejemplo 4. Por tanto, en un aspecto, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas y a métodos para administrar por vía subcutánea exendina(9-39) a una dosis BID en el intervalo de aproximadamente 7,5 mg-20 mg para el tratamiento y la prevención de hipoglucemia hiperinsulinémica.

Los médicos y farmacólogos reconocerán que la presente invención representa un avance significativo en el campo de intervención quirúrgica para la pérdida de peso y/o el control metabólico. Esto es especialmente importante porque los pacientes posbariátricos que actualmente padecen fluctuaciones hipoglucémicas no tienen ninguna terapia eficaz y, a veces, están gravemente enfermos. La naturaleza intratable del problema ha sido destacada por pacientes con una enfermedad tan debilitante que revirtieron la cirugía o se sometieron a otros procedimientos altamente delicados, tales como pancreatometomía parcial, únicamente para descubrir que el estado persiste. La presente invención proporciona una intervención terapéutica que puede protegerlos en gran medida si padecen hiperinsulinemia posbariátrica.

2. Definiciones

La terminología usada en el presente documento tiene el fin de describir realizaciones particulares únicamente. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto habitual en la técnica a la que pertenece esta invención. En algunos casos, los términos con significados habitualmente entendidos se definen en el presente documento para mayor claridad y/o para una fácil referencia, y la inclusión de tales definiciones en el presente documento no debe interpretarse como una diferencia sustancial con respecto a la definición del término que se entiende generalmente en la técnica.

Aunque puede usarse cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento en la práctica o en las pruebas de la presente invención, a continuación se describen métodos y materiales preferidos.

Todas las designaciones numéricas, por ejemplo, pH, temperatura, tiempo, concentración y peso molecular, incluyendo los intervalos, son aproximaciones que varían (+) o (-) en incrementos de 0,1 ó 1,0, según sea apropiado. Aunque no siempre se indica explícitamente, debe entenderse que todas las designaciones numéricas están precedidas por el término "aproximadamente". Las referencias a intervalos incluyen los valores

extremos a menos que se indique lo contrario. Por ejemplo, la administración de una dosis de exendina(9-39) en el intervalo de 7,5 mg-15 mg incluye la administración de 7,5 mg o 15 mg.

5 Las formas en singular “un”, “una” y “el/la” incluyen los referentes en plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, la referencia a “un compuesto” incluye una pluralidad de compuestos.

10 Se pretende que el término “que comprende” signifique que las composiciones y los métodos incluyen los elementos recitados, pero sin excluir otros. “Que consiste esencialmente en” significará que excluye otros elementos que afectarían materialmente a las características básicas y novedosas de la invención reivindicada. “Que consiste en” significará que excluye cualquier elemento, etapa o componente no especificado en la reivindicación. Las realizaciones definidas por cada uno de estos términos de transición se encuentran dentro del alcance de esta invención.

15 “Exendina(9-39)” o “Ex(9-39)” o “Ex9” se refiere a un péptido de 31 aminoácidos con una fórmula empírica de $C_{149}H_{234}N_{40}O_{47}S$ y un peso molecular de 3369,8 Dalton. La secuencia de aminoácidos para la exendina(9-39) es la siguiente: H-Asp-Leu-Ser-Lys-Gln-Met-Glu-Glu-Glu-Ala-Val-Arg-Leu-Phe-Ile-Glu-Trp-Leu-Lys-Asn-Gly-Gly-Pro-Ser-Ser-Gly-Ala-Pro-Pro-Pro-Ser-NH₂. La exendina(9-39) comprende los residuos 9-39 del agonista del receptor de GLP-1, exendina-4, y es un antagonista del receptor de GLP-1. Véase Montrose-Rafizadeh *et al.*, Journal of Biological Chemistry, 272:21201-21206 (1997). Tal como se usa en el presente documento, el término
20 “exendina(9-39)” abarca sales farmacéuticamente aceptables de exendina(9-39), incluyendo, pero sin limitarse a, las sales de sulfato, clorhidrato, fosfato, sulfamato, acetato, citrato, lactato, tartrato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, ciclohexilsulfamato y quinato. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) está en forma de acetato de exendina(9-39) o trifluoroacetato de exendina(9-39). Cuando no se
25 especifique lo contrario en el presente documento, se usa acetato de exendina(9-39) (obtenido de Bachem (Clinalfa, Läufelfingen, Suiza)).

30 La abreviatura “GLP1A” se refiere a un antagonista del receptor de GLP1 (a veces denominado “antagonista del GLP1”).

Los términos “administrar”, “administrando” y “administración”, tal como se usan en el presente documento, se refieren a la introducción de un compuesto (por ejemplo, exendina(9-39)) o una composición en un sujeto humano. Tal como se usa en el presente documento, los términos abarcan tanto la administración directa (por ejemplo, administración a un sujeto por un profesional sanitario u otro cuidador, o mediante autoadministración, o
35 mediante la programación de un dispositivo automático para administrar exendina(9-39) en una pauta BID) como la administración indirecta (por ejemplo, el acto de recetar un compuesto o una composición a un sujeto).

40 Los términos “tratamiento”, “tratando” y “tratar”, tal como se usan en el presente documento en referencia a la administración de exendina(9-39) para tratar la hipoglucemia hiperinsulinémica, engloban cualquier tratamiento de una enfermedad en un sujeto humano, e incluyen: (a) reducir el riesgo, la frecuencia o gravedad de episodios hipoglucémicos en pacientes con antecedentes de hipoglucemia hiperinsulinémica, (b) reducir el riesgo de aparición de hipoglucemia en un sujeto que se determina que tiene predisposición a la enfermedad, tal como una persona que se ha sometido a cirugía posbariátrica, pero que aún no se le ha diagnosticado como que padece la enfermedad, (c) impedir el desarrollo de la enfermedad; y/o (d) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la
45 regresión de la enfermedad y/o mitigar uno o más síntomas de la enfermedad.

Tal como se usa en el presente documento, el término “líquido inyectado” se refiere a la composición que contiene exendina(9-39) administrada por vía subcutánea a un paciente en una administración de la mañana o de la noche. Un líquido inyectado de la mañana o de la noche se administra normalmente como una única inyección (por ejemplo, inyección de un volumen de 0,7 ml). Sin embargo, un líquido inyectado puede administrarse usando más de una (por ejemplo, dos) inyecciones, tal como puede realizarse cuando el volumen de líquido inyectado es mayor que el tolerado cómodamente como una única inyección.

55 Tal como se usa en el presente documento, “/kg” (por ejemplo, 7.500 pmol/kg) significa “por kilogramo de peso corporal del paciente”.

3. Métodos y composiciones para el tratamiento de hipoglucemia hiperinsulinémica

60 En un aspecto, la presente invención proporciona métodos y composiciones para el tratamiento de hipoglucemia hiperinsulinémica mediante la administración subcutánea (s.c.) de una dosis terapéuticamente eficaz de exendina(9-39).

3.1. Población de pacientes

65 En algunas realizaciones, un paciente que va a tratarse según los métodos descritos en el presente documento es un paciente que padece hipoglucemia hiperinsulinémica (HH). En determinadas realizaciones, el paciente que

padece hipoglucemia hiperinsulinémica se ha sometido previamente a cirugía bariátrica (por ejemplo, derivación gástrica en Y de Roux) y/o a un procedimiento metabólico relacionado. En determinadas realizaciones, el paciente se ha sometido previamente a cirugía bariátrica (por ejemplo, derivación gástrica en Y de Roux) y/o a un procedimiento metabólico relacionado y tiene riesgo de desarrollar hipoglucemia hiperinsulinémica.

5

Los pacientes con hipoglucemia hiperinsulinémica pueden identificarse mediante cualquier método adecuado. En algunas realizaciones, la hipoglucemia hiperinsulinémica se diagnostica por la presencia de la tríada de Whipple, que tiene los siguientes criterios: (1) la aparición de síntomas hipoglucémicos; (2) bajo nivel de glucosa en plasma documentado en el tipo de síntomas; y (3) resolución de los síntomas después de aumentar la glucosa en plasma. En algunas realizaciones, la hipoglucemia hiperinsulinémica se define por la aparición de glucosa capilar ≤ 50 mg/dl al menos una vez al mes según el informe o registro médico del paciente. En algunas realizaciones, la hipoglucemia hiperinsulinémica se define por una concentración de glucosa en plasma ≤ 55 mg/dl durante una prueba de tolerancia a la glucosa oral o prueba de tolerancia a la comida en asociación con insulina (≥ 3 uU/ml) o péptido C ($>0,3$ mg/dl) en plasma inapropiadamente elevados cuando la glucosa era ≤ 55 mg/dl. En algunas realizaciones, la hipoglucemia hiperinsulinémica se define por una concentración de glucosa en plasma ≤ 60 mg/dl durante una prueba de tolerancia a la glucosa oral o prueba de tolerancia a la comida en asociación con insulina (≥ 3 uU/ml) o péptido C ($>0,3$ mg/dl) en plasma inapropiadamente elevados cuando la glucosa era ≤ 60 mg/dl.

10

15

20

“Hipoglucemia hiperinsulinémica”, tal como se usa en el presente documento, abarca los estados de síndrome de evacuación gástrica rápida, nesidioblastosis, síndrome de hipoglucemia pancreatogena sin insulinoma (NIPHS) y/o hipoglucemia reactiva posprandial. La hipoglucemia hiperinsulinémica puede resultar de un procedimiento gástrico o bariátrico, tal como una derivación gástrica en Y de Roux (RYGB), o puede tener un origen congénito, adquirido o inducido.

25

En una realización, el paciente tratado se ha sometido previamente a un procedimiento bariátrico y/o procedimiento metabólico relacionado, tal como un procedimiento de derivación gástrica en Y de Roux. Los procedimientos bariátricos y/o metabólicos relacionados incluyen, pero no se limitan a, derivación gástrica en Y de Roux, gastrectomía vertical en manga, colocación de un dispositivo de endomanga, tal como el sistema de revestimiento gastrointestinal de endobarrera, también denominado “revestimiento endoluminal”, reparación de la superficie de la mucosa duodenal, también denominada ablación duodenal, derivación parcial del duodeno, que implica la anastomosis duodeno-ileal o duodeno-yeyunal, bloqueo del nervio vago y/o piloroplastia.

30

35

Un procedimiento bariátrico (es decir, cirugía bariátrica) normalmente implica cualquiera de los siguientes: derivación parcial o completa del duodeno y/o disminución de la exposición del duodeno a nutrientes, aumento de la rapidez del tránsito de nutrientes al intestino grueso (a menudo específicamente el íleo) y/o aumento de otro modo de la exposición del íleo a nutrientes. La cirugía bariátrica puede estar destinada a la pérdida de peso o a un beneficio metabólico (tal como resolución de la diabetes), o a ambos. Tales procedimientos de pérdida de peso o metabólicos, denominados en el presente documento “procedimientos bariátricos” pueden potenciar la secreción de GLP-1 a partir del intestino delgado distal, especialmente el íleo, conduciendo a una secreción elevada de insulina y, en algunos pacientes, a hipoglucemia. El paciente puede denominarse paciente “posterior a cirugía bariátrica” o “posterior a RYGB”.

40

45

En otra realización, el paciente se ha sometido previamente a un procedimiento metabólico relacionado. A modo de ejemplo, en una realización, el paciente tratado se ha sometido previamente a un procedimiento quirúrgico no bariátrico que involucra al aparato digestivo (incluyendo, pero sin limitarse a, esofagectomía, por ejemplo para el tratamiento de cáncer de esófago, funduplicatura de Nissen, por ejemplo para el tratamiento de reflujo gastroesofágico, o gastrectomía, por ejemplo para el tratamiento de cáncer gástrico), y por tanto puede denominarse en el presente documento paciente “posterior a cirugía gastrointestinal”.

50

55

En otra realización, el paciente tratado es prediabético y/o insulinoresistente y puede beneficiarse de la prevención de hiperestimulación pancreática por la ingesta oral de hidratos de carbono, lo que conduce a hipoglucemia posprandial. En otra realización, un paciente tratado presenta una forma congénita, adquirida o inducida de hipoglucemia hiperinsulinémica, tal como hiperinsulinismo congénito, o a veces denominada nesidioblastosis congénita.

60

En una realización preferida, sin embargo, el paciente se ha sometido a cirugía bariátrica para ayudar en la pérdida de peso y/o en el control metabólico, y ha padecido fluctuaciones hipoglucémicas que requirieron atención médica urgente; tales pacientes, tal como se demuestra de manera conclusiva en los ejemplos a continuación, pueden beneficiarse considerablemente del tratamiento con una formulación administrada por vía subcutánea de exendina(9-39) según la invención.

65

Dentro de 10 años de la cirugía bariátrica y/u otra cirugía gastrointestinal, un paciente adulto típico con hipoglucemia hiperinsulinémica presentará síntomas de hipoglucemia (por ejemplo, palpitaciones, temblores, astenia, sudación, aturdimiento, cansancio y/o visión borrosa) en el plazo de 5 horas tras comer, que están asociados con una glucosa en plasma ≤ 60 mg/dl, y la resolución inmediata con la ingesta de hidratos de

carbono. Muchos pacientes experimentan síntomas neuroglucopénicos, tales como estado mental alterado, pérdida de conocimiento o convulsiones. La hiperinsulinemia (>2 uU/ml o 13,9 pmol/l) puede documentarse en el entorno de laboratorio apropiado en el momento del acontecimiento hipoglucémico. Sin embargo, la documentación de hiperinsulinemia no siempre es posible debido a los desafíos logísticos asociados con esta prueba (que implica hipoglucemia inducida) y las preocupaciones sobre la seguridad del paciente.

Los médicos expertos en la técnica reconocerán, a partir de esta divulgación, que los métodos proporcionan un tratamiento eficaz, de tal manera que un médico que siga la misma información prescrita en el presente documento puede esperar que se logre un beneficio terapéutico en pacientes que, para el tratamiento de varios estados subyacentes, se han sometido a intervención quirúrgica de la anatomía gastrointestinal y padecen la hipoglucemia hiperinsulinémica secundaria resultante.

Por consiguiente, a modo de ilustración, los métodos pueden usarse para tratar a pacientes tales como: 1) un paciente que, debido a reflujo gastroesofágico, se sometió a un procedimiento de funduplicatura de Nissen y posteriormente desarrolló hipoglucemia hiperinsulinémica secundaria; 2) un paciente que, debido a un tumor gástrico maligno (por ejemplo, adenocarcinoma, tumor del estroma gastrointestinal (GIST) o linfoma), requirió gastrectomía parcial o completa, con o sin cualquiera de los procedimientos reconstructivos gástricos anteriores: Bilroth I, Bilroth II, RYGB o interposición yeyunal, desarrolló hipoglucemia hiperinsulinémica secundaria; y 3) un paciente que, debido a un tumor que implica al esófago o a la unión gastroesofágica (EGJ), se sometió a esofagectomía, desarrolló hipoglucemia hiperinsulinémica secundaria.

Además, los expertos en la técnica apreciarán que los pacientes con hipoglucemia debido a hiperinsulinismo endógeno, adquirido o congénito ("hiperinsulinemia endógena", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier estado no provocado por cirugía bariátrica o cirugía GI) pueden beneficiarse de la aplicación de los métodos. En estos casos, la hipoglucemia puede ser grave, incluso potencialmente mortal. El hiperinsulinismo adquirido puede resultar de insulinomas, síndromes autoinmunitarios, hipoglucemia reactiva, nesidioblastosis en adultos o síndrome de evacuación gástrica rápida (no debido a cirugía bariátrica o GI). El hiperinsulinismo congénito puede manifestarse en el periodo de recién nacido, o muchos años más tarde. Por consiguiente, los métodos y las formulaciones incluyen métodos para tratar tales estados. En el caso de hiperinsulinemia resultante de un insulinoma e hiperinsulinismo congénito, se emplearía una formulación de liberación sostenida y/o una formulación de liberación inmediata que se administra de manera continua, tal como mediante una bomba subcutánea, con particular énfasis en la prevención de hiperinsulinemia nocturna.

De manera similar, el hiperinsulinismo puede inducirse además como un efecto secundario medicinal de, por ejemplo, un agonista de GLP-1, tal como exenatida, liraglutida, lixisenatida, albiglutida y dulaglutida. Por consiguiente, los métodos y las formulaciones incluyen métodos para tratar la sobredosis con tales fármacos.

En algunos casos, los pacientes con hipoglucemia hiperinsulinémica también pueden presentar deterioro cognitivo asociado a hipoglucemia hiperinsulinémica acumulado. Por consiguiente, los métodos y las formulaciones incluyen métodos para tratar o prevenir un empeoramiento del deterioro cognitivo en tales pacientes. Además, al igual que en pacientes pediátricos y adultos, la hipoglucemia aguda y crónica puede estar asociada con morbilidades no sólo tales como deterioro cognitivo, sino también depresión, palpitaciones cardíacas/taquicardia y posiblemente otros estados, pudiéndose reducir o prevenir todos ellos previniendo la hipoglucemia mediante la administración de un GLP1A, tal como exendina(9-39), tal como se describe en el presente documento para pacientes posbariátricos que padecen hiperinsulinemia/hipoglucemia. En algunos pacientes diabéticos, la hipoglucemia grave se ha asociado repetidamente con un aumento del riesgo de mortalidad total y cardiovascular. Por tanto, la prevención de la hipoglucemia grave es un objetivo clínico importante tanto para pacientes hospitalizados como no hospitalizados, y la presente invención proporciona métodos y formulaciones útiles para ambos grupos de pacientes.

3.2. Parámetros de tratamiento

En algunas realizaciones, las composiciones que comprenden una dosis terapéuticamente eficaz del GLP1A, exendina(9-39), se administran a un paciente que lo necesita para el tratamiento o la prevención de hipoglucemia hiperinsulinémica.

3.2.1. Vía de administración

Según la invención, la exendina(9-39) se administra mediante administración subcutánea (por ejemplo, inyección subcutánea). Los sitios de inyección, incluyen, pero no se limitan a, inyección en el muslo, el abdomen, la zona superior del brazo o la zona superior de la nalga.

3.2.2. Dosis de administración

Tal como se comenta en los ejemplos a continuación y en otras partes en el presente documento, los pacientes con hipoglucemia hiperinsulinémica pueden tratarse mediante administración s.c. BID de exendina(9-39) a dosis

terapéuticamente eficaces de 30 mg o más bajas (por ejemplo, de aproximadamente 10 mg a 30 mg, de 10 mg a 25 mg, de 10 mg a 20 mg, de 15 mg a 20 mg, de 10 mg a 17,5 mg y de 10 mg a 15 mg). Las dosis a modo de ejemplo incluyen 10 mg, 12,5 mg, 15 mg, 17,5 mg, 20 mg, 22,5 mg, 25 mg, 27,5 mg o 30 mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de exendina(9-39) que se administra (por ejemplo, en

3.2.3. Pauta de administración

Ventajosamente, la exendina(9-39) puede administrarse por vía subcutánea BID para tratar la hipoglucemia hiperinsulinémica. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se administra por vía subcutánea QD.

3.2.3.1. Administración BID

La administración BID (dos veces al día) se conoce bien en las técnicas médicas. En algunas realizaciones, las dosis BID se administran (por ejemplo, se autoadministran) a intervalos de aproximadamente 12 horas (por ejemplo, 7 por la mañana y 7 por la noche). Sin embargo, son posibles intervalos entre administraciones más cortos (por ejemplo, 8 por la mañana y 6 por la noche) o más largos (por ejemplo, 7 por la mañana y 10 por la noche) siempre que las administraciones estén separadas al menos aproximadamente 6 horas. Preferiblemente las administraciones están separadas al menos aproximadamente 7 horas, 8 horas, 9 horas, 10 horas u 11 horas. Preferiblemente, las administraciones no están separadas más de aproximadamente 15 horas.

3.2.3.2. Momento de la administración y relación con las comidas

En un aspecto de la invención, una formulación de liberación inmediata de exendina(9-39) para su uso según la presente invención se proporciona como una formulación inyectable subcutánea que se administra antes de la administración de una comida. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la exendina(9-39) se administra en el plazo de 60-150 minutos (por ejemplo, en el plazo de 90-120 minutos) antes de la comida de la mañana y de la comida de la noche (o antes de las dos comidas principales del día, separadas aproximadamente 6 horas o más). En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se administra al menos una hora antes de la comida de la mañana. Al usar la administración de dosis BID 60-150 minutos (por ejemplo, en el plazo de 90-120 minutos) antes de la comida de la mañana y de la comida de la noche, la concentración máxima de GLP-1 en plasma que se produce aproximadamente 30-60 minutos después de la comida se contrarrestará con concentraciones de exendina(9-39) en plasma suficientes en ese momento como para prevenir la hiperinsulinemia inducida por GLP-1.

En otra realización, la administración de dosis BID será una administración de la mañana y de la noche, siendo la administración de la mañana después de despertarse por la mañana y la administración de la noche aproximadamente 12 horas más tarde (en algunas realizaciones, aproximadamente 12-14 horas más tarde, aproximadamente 12-16 horas más tarde o aproximadamente 9-15 horas más tarde). La administración de la mañana puede ser antes o después de la comida de la mañana (el desayuno). En esta realización, la pauta de administración de dosis es independiente de (es decir, no se basa en ni está dictado por) el momento de las comidas. En algunas realizaciones, la administración de la mañana se encuentra dentro de un tiempo especificado antes y/o después de la comida de la mañana (por ejemplo una hora antes y/o una hora después del desayuno). En algunas realizaciones, la administración de la mañana es antes o después de la comida de la mañana, tal como se comentó anteriormente, y la administración de la noche es antes de acostarse (irse a dormir) tal como entre la comida de la noche e irse a dormir, o en el plazo de 1, 2 ó 3 horas de irse a dormir.

En una realización relacionada, la pauta de administración de dosis es semiindependiente de las comidas. Por ejemplo, en la pauta semiindependiente, la dosis de la mañana se administra en una pauta predeterminada en relación con la comida de la mañana y la dosis de la noche se programa en un momento independiente del momento de la comida de la noche (por ejemplo, aproximadamente 12 horas después de la administración de la mañana sin tener en cuenta el momento de la comida de la noche).

Sin pretender estar vinculado a un mecanismo específico, se cree que la pauta, la dosis, la vía y las formulaciones para su uso según la invención permiten que la administración de la noche proporcione una protección adicional en el desayuno, y que la administración de la mañana proporcione protección durante el día (por ejemplo, almuerzo, cena o múltiples tentempiés durante el día). Ventajosamente, la administración subcutánea BID de una dosis terapéuticamente eficaz de exendina(9-39) protege incluso cuando no está programada para coincidir con las comidas. En cambio, tal como se demuestra en el ejemplo 2, un inyección de bolo i.v. de 7.500 pmol/kg de exendina(9-39) revirtió la hipoglucemia únicamente si estaba programada para coincidir con las concentraciones máximas de GLP-1 en plasma. Los enfoques de administración de dosis expuestos en el presente documento proporcionan considerablemente más flexibilidad al paciente que los

enfoques alternativos, lo que da como resultado un mayor cumplimiento y una calidad de vida superior para el paciente.

3.2.4. Formulación de administración

5

3.2.4.1. Concentración y volumen de líquido inyectado

Sorprendentemente, pueden modificarse determinados parámetros farmacocinéticos de la administración s.c. BID de exendina(9-39) seleccionando la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado. Tal como se describe en los ejemplos, la inyección subcutánea de una formulación de concentración baja da como resultado un T_{máx} más corto (es decir, un aumento más rápido de C_{máx}) en relación con una concentración más alta. La inyección subcutánea de una formulación de concentración alta da como resultado una C_{máx} más baja, un T_{máx} más largo y una semivida más larga en relación con una concentración más baja. Véase la figura 7A y la tabla 4.

10

Para los fines de esta invención, una concentración más baja de 20 mg/ml es una concentración baja, por ejemplo, 4-20 mg/ml, de manera preferible aproximadamente 10-20 mg/ml y, a menudo, aproximadamente 8-16 mg/ml, lo más a menudo aproximadamente 13-16 mg/ml y muy a menudo 15 mg/ml. La formulación de concentración baja da como resultado un perfil farmacocinético útil para la administración BID. Tal como se muestra en la figura 7B y en la tabla 5 (ejemplo 3), la administración subcutánea de exendina(9-39) a dosis variables pero concentraciones equivalentes de aproximadamente 13-16 mg/ml dio como resultado una formulación de liberación inmediata favorable con una C_{máx} más alta que una concentración de exendina(9-39) en plasma en equilibrio preferida de al menos 100 ng/ml, tal como se mide mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas, a dosis de 10, 20 y 30 mg.

20

Para los fines de esta invención, una concentración más alta de aproximadamente 20 mg/ml (por ejemplo, 20-45 mg/ml) se considera una concentración "alta". Tal como se muestra en la figura 7A y en la tabla 4, la inyección subcutánea de una disolución relativamente más concentrada, por ejemplo, en un intervalo inclusivo de y superior a 20 mg/ml, por ejemplo, 20-40 mg/ml, dará como resultado una C_{máx} más baja, con una semivida más larga. Por ejemplo, tal como se muestra en la figura 7A y en la tabla 4, la administración subcutánea de exendina(9-39) a una dosis de aproximadamente 20 mg y una concentración de aproximadamente 24 mg/ml mostró una semivida significativamente más larga que la exendina(9-39) administrada por vía subcutánea a una dosis de aproximadamente 10 mg y una concentración de aproximadamente 16 mg/ml (9,14 horas frente a 3,60 horas). En algunas realizaciones, una disolución más altamente concentrada de exendina(9-39) da como resultado una C_{máx} de exendina(9-39) en plasma que es más baja que una formulación de concentración relativamente más baja pero que aun así es más alta que una concentración de exendina(9-39) en plasma en equilibrio preferida de 70 ng/ml o más alta (por ejemplo, tal como se muestra en la figura 7A y en la tabla 4 para la dosis "10X" (aproximadamente 20 mg) en comparación con la dosis "5X" (aproximadamente 10 mg)). Por tanto, una disolución más concentrada puede ser más susceptible de una administración de dosis menos frecuente, por ejemplo, administración de dosis QD, o de una administración de dosis BID que no está vinculada a las comidas.

40

En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se administra por vía subcutánea a una concentración de aproximadamente 4-25 mg/ml, aproximadamente 4-20 mg/ml, aproximadamente 10-25 mg/ml, aproximadamente 10-20 mg/ml, aproximadamente 10-18 mg/ml, aproximadamente 8-16 mg/ml, aproximadamente 12-20 mg/ml, aproximadamente 10-15 mg/ml o aproximadamente 13-16 mg/ml (por ejemplo, aproximadamente 4 mg/ml, aproximadamente 5 mg/ml, aproximadamente 6 mg/ml, aproximadamente 7 mg/ml, aproximadamente 8 mg/ml, aproximadamente 9 mg/ml, aproximadamente 10 mg/ml, aproximadamente 11 mg/ml, aproximadamente 12 mg/ml, aproximadamente 13 mg/ml, aproximadamente 14 mg/ml, aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 16 mg/ml, aproximadamente 17 mg/ml, aproximadamente 18 mg/ml, aproximadamente 19 mg/ml, aproximadamente 20 mg/ml, aproximadamente 21 mg/ml, aproximadamente 22 mg/ml, aproximadamente 23 mg/ml, aproximadamente 24 mg/ml o aproximadamente 25 mg/ml).

45

50

En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se administra por vía subcutánea a una concentración en el intervalo de aproximadamente 13 mg/ml a aproximadamente 16 mg/ml. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se administra por vía subcutánea a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml.

55

Tal como se muestra en la figura 7B y en la tabla 5, tanto una dosis relativamente más baja de 10 mg como una dosis relativamente más alta de 30 mg produjeron una C_{máx} más alta que la concentración de exendina(9-39) en plasma en equilibrio preferida de 70 ng/ml o más alta, y fueron eficaces en la reversión de la hipoglucemia hiperinsulinémica cuando se administraron a concentraciones aproximadamente iguales en el intervalo de aproximadamente 13-16 mg/ml. Por tanto, en un aspecto, una dosis relativamente más baja de exendina(9-39) (por ejemplo, una dosis de aproximadamente 5-10 mg, por ejemplo, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 7,5 mg o aproximadamente 10 mg) puede ser eficaz en el tratamiento de hipoglucemia hiperinsulinémica ajustando la disolución de exendina(9-39) a una concentración apropiada tal como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, una dosis relativamente más baja de exendina(9-39) (por ejemplo, una dosis de aproximadamente 5-10 mg, por ejemplo, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 7,5 mg o

60

65

aproximadamente 10 mg) se administra a una concentración de al menos aproximadamente 10 mg/ml, por ejemplo, a una concentración en el intervalo de aproximadamente 13-16 mg/ml, por ejemplo, a una concentración de aproximadamente 15 mg/ml.

- 5 En general, la exendina(9-39) se administra por vía subcutánea a una concentración suficiente para dar como resultado una concentración de exendina(9-39) en plasma en equilibrio de al menos 70 ng/ml, al menos 100 ng/ml o al menos 150 ng/ml, tal como se mide mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se administra por vía subcutánea a una concentración suficiente para dar como resultado una concentración de exendina(9-39) en plasma en equilibrio de aproximadamente 100-200 ng/ml. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se administra por vía subcutánea a una concentración suficiente para dar como resultado una concentración de exendina(9-39) en plasma en equilibrio de al menos 70 ng/ml hasta 250 ng/ml.

15 A continuación, la tabla A proporciona formulaciones terapéuticamente eficaces de exendina(9-39) a modo de ejemplo:

TABLA A

	Exendina(9-39)	Concentración
1	10-30 mg	10-25 mg/ml
2	10-30 mg	10-20 mg/ml
3	10-30 mg	10-18 mg/ml
4	10-30 mg	13-16 mg/ml
5	10-25 mg	10-25 mg/ml
6	10-25 mg	10-20 mg/ml
7	10-25 mg	10-18 mg/ml
8	10-25 mg	13-16 mg/ml
9	10-20 mg	10-25 mg/ml
10	10-20 mg	10-20 mg/ml
11	10-20 mg	10-18 mg/ml
12	10-20 mg	13-16 mg/ml
13	10-15 mg	10-25 mg/ml
14	10-15 mg	10-20 mg/ml
15	10-15 mg	10-18 mg/ml
16	10-15 mg	13-16 mg/ml
17	15-30 mg	10-25 mg/ml
18	15-30 mg	10-20 mg/ml
19	15-30 mg	10-18 mg/ml
20	15-30 mg	13-16 mg/ml
21	15-25 mg	10-25 mg/ml
22	15-25 mg	10-20 mg/ml
23	15-25 mg	10-18 mg/ml
24	15-25 mg	13-16 mg/ml
25	15-20 mg	10-25 mg/ml
26	15-20 mg	10-20 mg/ml
27	15-20 mg	10-18 mg/ml
28	15-20 mg	13-16 mg/ml

20 En algunas realizaciones, cada administración de una administración subcutánea BID de exendina(9-39) da como resultado una C_{máx} de exendina(9-39) de al menos 100 ng/ml. En algunas realizaciones, por ejemplo para pacientes que tienen niveles de GLP-1 relativamente más altos o que tienen una mayor sensibilidad de las

células beta al GLP-1, cada administración de una administración subcutánea BID de exendina(9-39) da como resultado una $C_{máx}$ de exendina(9-39) de al menos 150 ng/ml.

En algunas realizaciones, el líquido inyectado de exendina(9-39) comprende una dosis y una concentración de exendina(9-39) que, cuando se administra, da como resultado una concentración de exendina(9-39) en plasma en equilibrio de al menos 70 ng/ml, preferiblemente de al menos 100 ng/ml o incluso más preferiblemente de al menos 150 ng/ml, tal como se mide mediante CL-EM. En algunas realizaciones, la formulación de exendina(9-39) tiene una dosis y una concentración tales que da como resultado una concentración de exendina(9-39) en plasma en equilibrio de 100-250 ng/ml, por ejemplo, 100-200 ng/ml, 100-150 ng/ml o 150-200 ng/ml.

En algunas realizaciones, cada dosis se administra en un volumen total que oscila entre 0,25 y 2 ml de líquido inyectado, administrándose a la mayoría de los pacientes un volumen de inyección que oscila entre 0,5 y 1,5 ml, por ejemplo, entre 0,7 y 1 ml.

3.2.4.2. Formulación de líquido inyectado

La exendina(9-39) puede administrarse en cualquier forma farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se formula con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable que es adecuado para administración subcutánea. Los ejemplos de diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, agua, solución salina y soluciones amortiguadoras isotónicas. En algunas realizaciones, la formulación de líquido inyectado comprende además uno o más excipientes adicionales tales como conservantes y agentes reguladores del pH.

En un enfoque, la exendina(9-39) se formula en solución salina normal (solución salina al 0,9%). En un enfoque, la exendina(9-39) se formula con un conservante antimicrobiano, un agente regulador de la tonicidad, tal como manitol, y/o un tampón (por ejemplo, para llevar la disolución hasta un pH de aproximadamente 4-5).

Tal como se muestra en el ejemplo 3 y la figura 7A, la administración de una dosis más baja (10 mg o "5x") dio como resultado una $C_{máx}$ de exendina(9-39) más alta que dosis más altas formuladas en el mismo volumen de disolución (es decir, con una concentración más alta). Sin pretender estar vinculado a un mecanismo particular, esto puede ser el resultado de la agregación (por ejemplo, formación de dímeros o multímeros más altos). Por tanto, en un enfoque, la exendina(9-39) se formula con un agente para reducir la agregación o formación de dímeros, tal como un tensioactivo (por ejemplo, un tensioactivo no iónico, tal como un polisorbato o un poloxámero), un poliol o un azúcar, u optimizando el pH y/o la fuerza iónica de la disolución.

En un aspecto, la exendina(9-39) se formula para liberación inmediata. En un enfoque, la exendina(9-39) se formula como una formulación de liberación inmediata inyectable de exendina(9-39) usando una formulación que se usa para administrar exenatida, comercializada como BYETTA™ (véanse las patentes estadounidenses n.ºs: 5.424.286; 6.858.576; 6.872.700; 6.902.744; 6.956.026; 7.297.761; 7.521.423; y 7.741.269).

En otro aspecto, la exendina(9-39) se formula para liberación prolongada, es decir, una formulación de liberación prolongada, de tal manera que, cuando se administra, la formulación garantiza que el principio activo tenga una presencia duradera en la sangre durante todo el periodo de tiempo objetivo en el transcurso del tratamiento. El uso de estas formulaciones y estos métodos permite que la homeostasis de la glucosa en plasma se mantenga con menos inyecciones subcutáneas, en relación con formulaciones de liberación inmediata. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se formula con microesferas o nano-lipocápsulas, que proporcionan perfiles de liberación sostenida y prolongada. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se formula con microesferas de erosión lenta. Tales microesferas incluyen, por ejemplo y sin limitación, aquellas elaboradas con un biopolímero, tal como poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) o su equivalente. Tales formulaciones proporcionan la liberación del fármaco a lo largo de un periodo de tiempo prolongado (1-10 semanas). Para preparar la formulación, se carga la exendina(9-39) en las microesferas, y la formulación hace que la exendina se libere fácilmente a lo largo del tiempo a medida que se degradan los materiales de la matriz. Estas microesferas pueden formularse para minimizar los estallidos de fármacos y mantener un perfil de liberación constante. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se encapsula en nano-lipocápsulas para preparar otra formulación para su uso según la invención, que proporciona una liberación de fármaco sostenida y prolongada similar. Estas formulaciones se proporcionan en una variedad de composiciones y tamaños de partícula y de cápsula, proporcionando al médico una variedad de formulaciones de perfil de liberación rápida, media y lenta para optimizar la terapia para pacientes individuales.

En un enfoque, la exendina(9-39) se formula como una formulación de liberación prolongada inyectable de exendina(9-39) usando una formulación que se usa para administrar exenatida, comercializada como BYDUREON™ (véanse las patentes estadounidenses n.ºs: 5.424.286; 6.479.065; 6.495.164; 6.667.061; 6.824.822; 6.858.576; 6.872.700; 6.956.026; 7.223.440; 7.456.254; 7.563.871; 7.612.176; 7.741.269; 8.216.180; 8.329.648; 8.431.685; 8.439.864; 8.461.105; y 8.906.851).

En otro enfoque, la exendina(9-39) se formula usando una formulación que se usa para administrar liraglutida,

administrada en una dosis diaria, comercializada como Victoza™ (véanse las patentes estadounidenses n.ºs 6.004.297; 6.268.343; 6.458.924; 7.235.627; 8.114.833; y 8.846.612).

5 Otras formulaciones para su uso según la invención que tienen una variedad de características y ventajas diferentes pueden elaborarse según las enseñanzas de las patentes estadounidenses n.ºs 8.445.647; 8.895.033; 8.969.293; 8.299.025; y 8.546.326; y las publicaciones de solicitud de patente estadounidenses n.ºs 2015/0258016; 2015/0238568; 2015/0057227; 2015/0056285; 2014/0309168; 2014/0256626; 2013/0252894; 2013/0195939; y 2013/0172250, sustituyendo la exendina(9-39) por el principio activo farmacéutico descrito.

10 En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se formula como una disolución isotónica conservada estéril en una ampolla o un vial de vidrio de dosis unitaria o múltiple para su administración con el uso de una jeringa, similar al kit de urgencias de glucagón. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se proporciona como una suspensión inyectable en una bandeja monodosis que contiene un vial de exendina(9-39), un conector de vial, una jeringa de diluyente precargada y una o más agujas.

15 En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se formula como una disolución isotónica conservada estéril en un dispositivo inyector de pluma de cartucho de vidrio. Tales composiciones contienen, por ejemplo y sin limitación, 5-30 mg de exendina(9-39), un volumen apropiado de un conservante antimicrobiano, un agente regulador de la tonicidad, tal como manitol, y un tampón para llevar la disolución hasta un pH de aproximadamente 4-5.

20 En algunos casos, la formulación de exendina(9-39) se proporciona como una suspensión inyectable en una pluma monodosis que contiene exendina(9-39), un diluyente y una o más agujas. En algunos casos, se usan microagujas recubiertas con o que contienen la formulación de exendina(9-39).

25 En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se formula como una disolución isotónica conservada estéril en un dispositivo inyector de pluma de cartucho de vidrio. Tales composiciones contienen, por ejemplo y sin limitación, 5-30 mg de exendina(9-39), un volumen apropiado de un conservante antimicrobiano, un agente regulador de la tonicidad, tal como manitol, y un tampón para llevar la disolución hasta un pH de aproximadamente 4-5.

30 3.2.5. Líquidos inyectados de la mañana y de la noche diferentes

En algunas realizaciones, la administración dos veces al día comprende administrar un líquido inyectado de la mañana y un líquido inyectado de la noche que contienen dosis de exendina(9-39) diferentes y/o concentraciones de exendina(9-39) diferentes. En general, cada uno de los líquidos inyectados tiene una cantidad y una concentración de exendina(9-39) dentro de los intervalos descritos en el presente documento. Sin embargo, en esta realización, la cantidad de exendina(9-39) en la administración de la noche es mayor que la cantidad en el líquido inyectado de la mañana y/o la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es mayor que la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana. En algunas realizaciones, los dos líquidos inyectados tendrán cantidades diferentes, la misma concentración, de. En algunas realizaciones, los dos líquidos inyectados tendrán la misma cantidad de exendina(9-39) pero diferente concentración. En algunas realizaciones, tanto la concentración como la cantidad de exendina(9-39) serán diferentes.

45 Sin pretender estar vinculado a un mecanismo particular, la cantidad aumentada de exendina(9-39) administrada por la noche puede proporcionar niveles de exendina(9-39) más altos en el momento de la comida de la mañana. Sin pretender estar vinculado a un mecanismo particular, se espera que la concentración aumentada de exendina(9-39) dé como resultado un perfil de concentración en plasma más "plano", incluyendo un tiempo más prolongado hasta T_{máx}, para un efecto más sostenido en el momento de la comida de la mañana.

50 En algunas realizaciones, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es de 5 mg a 10 mg mayor que la cantidad en el líquido inyectado de la mañana. En algunas realizaciones, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es 5 mg mayor que la cantidad en el líquido inyectado de la mañana. En algunas realizaciones, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es 10 mg mayor que la cantidad en el líquido inyectado de la mañana. En algunas realizaciones, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 10 mg, 15 mg o 20 mg.

60 En algunas realizaciones, la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es de 5 mg/ml-10 mg/ml mayor que la cantidad en el líquido inyectado de la mañana. En algunas realizaciones, la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es aproximadamente 5 mg/ml mayor que la cantidad en el líquido inyectado de la mañana. En algunas realizaciones, la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es aproximadamente 10 mg/ml mayor que la cantidad en el líquido inyectado de la mañana. En algunas realizaciones, la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 10-16 mg/ml y la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es mayor y está en el intervalo de 15-20 mg. En algunos casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es de 5 mg-10 mg mayor que la cantidad en el líquido inyectado de la mañana. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 10 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la

- noche es de 15 mg. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 10 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la noche es de 20 mg. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 15 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la noche es de 20 mg. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 15 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la noche es de 25 mg. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 20 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la noche es de 25 mg. En algunos de tales casos, la cantidad de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 20 mg y la cantidad en el líquido inyectado de la noche es de 30 mg.
- 10 En algunos casos, la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana no es la misma que la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche. Por ejemplo, en un enfoque, la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la mañana es de 15 mg/ml y la concentración de exendina(9-39) en el líquido inyectado de la noche es de 20 mg/ml.
- 15 En algunos casos, la cantidad y la concentración de exendina(9-39) de los líquidos inyectados de la mañana y de la noche se seleccionan de tal manera que el T_{máx} de exendina(9-39) después de la administración de la noche es más prolongado que el T_{máx} después de la administración de la mañana.
- 20 En un enfoque, el líquido inyectado de la noche se prepara o se formula para favorecer la multimerización (por ejemplo, dimerización) o precipitación de la exendina(9-39). La administración del líquido inyectado al irse a dormir puede retardar la absorción, produciendo un perfil de liberación más lenta en comparación con la administración de la mañana, lo que da como resultado un nivel basal por la mañana ventajoso de al menos 30 ng/ml. Se conocen métodos para preparar composiciones que comprenden proteínas multimerizadas. Por ejemplo, la adición de una proteína básica, tal como protamina, a la preparación de exendina(9-39) puede favorecer la formación de configuraciones de péptidos multiméricos. Alternativamente, la multimerización puede lograrse precipitando la exendina(9-39) a partir de la disolución, por ejemplo mediante la adición de sales, tales como sales de zinc, de tal manera que la razón molar de la sal con respecto a la exendina(9-39) es mayor de 1, para reducir la solubilidad de la exendina(9-39) en un disolvente neutro. En este enfoque, puede usarse la elevación del pH (por ejemplo hasta 7,4), en presencia de tales sales, para favorecer la precipitación del péptido.
- 30 Por tanto, en algunas realizaciones, el nivel de agregación o multimerización en el líquido inyectado de la noche es mayor que el nivel en el líquido inyectado de la mañana. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) está en una forma menos soluble en el líquido inyectado de la noche en comparación con el líquido inyectado de la mañana.

35 3.2.6. Duración de la terapia

- Los pacientes pueden recibir terapia durante un tiempo predeterminado, un tiempo indefinido o hasta alcanzar un criterio de valoración. El tratamiento puede continuarse a diario o semanalmente durante al menos de dos a tres meses, seis meses, un año o más tiempo. En algunas realizaciones, la terapia es durante al menos 30 días, al menos 60 días, al menos 90 días, al menos 120 días, al menos 150 días o al menos 180 días. En algunas realizaciones, el tratamiento se continúa durante al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses o al menos un año. En algunas realizaciones, el tratamiento se continúa durante el resto de la vida del paciente o hasta que la administración ya no sea eficaz para mantener niveles normales de glucosa en plasma para proporcionar un beneficio terapéutico significativo.
- 45 En algunas realizaciones, los pacientes adultos (60-100 kg o más) recibirán un beneficio terapéutico a partir de una única dosis de exendina(9-39).

3.3. Dispositivos de administración

- 50 Se conocen bien los dispositivos tales como dispositivos de pluma inyectables y bombas adecuados para inyecciones subcutáneas. Tales dispositivos pueden usarse para administrar las formulaciones de exendina(9-39) descritas anteriormente en el presente documento según los métodos descritos en el presente documento.

3.3.1. Dispositivo de pluma inyectable

- 55 En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se administra usando un dispositivo de pluma inyectable que puede preprogramarse para administrar una cantidad de dosificación fija. En algunas realizaciones, el dispositivo se preprograma para administrar una dosificación fija que oscila entre 5 y 30 mg, por ejemplo, entre 10 y 20 mg o entre 7,5y 15 mg, dependiendo de las necesidades y de los atributos físicos del paciente. En algunas realizaciones, la exendina(9-39) se formula como una preparación de liberación inmediata y se envasa, por ejemplo, en forma de un dispositivo de pluma de una sola cámara o de dos cámaras (por ejemplo, una pluma de dos cámaras de 1 a 5 ml, o bien una pluma desechable o bien una que recarga cartuchos desechables).
- 60

- 65 El producto farmacológico puede suministrarse como un polvo liofilizado secado por congelación, almacenado en un cartucho de dos cámaras de 1 a 3 ml o más grande, por ejemplo, 5 ml, que es compatible con un inyector de pluma desechable (véase, por ejemplo, el inyector de pluma/cartucho de dos cámaras Ypsomed:

www.ypsomed.com/yds/products/dual-chamber-pens.html). Las concentraciones de dosis pueden ponerse de manera conveniente a disposición de los pacientes, incluyendo, por ejemplo, dosis en el intervalo de 5-30 mg de exendina(9-39), que van a reconstituirse en un volumen de 0,25-2,0 ml de solución salina normal por dosis, u otro diluyente farmacéuticamente aceptable adecuado para administración subcutánea.

5 En algunas realizaciones, el producto farmacológico se suministra como dispositivos de pluma inyectables individuales que se preprograman para administrar una cantidad de dosificación fija, en los que la cantidad de dosificación de la mañana y la cantidad de dosificación de la noche son cantidades y/o concentraciones diferentes. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una primera pluma (por ejemplo, para la administración de la mañana) administra una dosis en el intervalo de 5-15 mg (por ejemplo, una dosis de 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 12,5 mg o 15 mg) y una segunda pluma (por ejemplo, para la administración de la noche) administra una dosis más alta en el intervalo de 15-20 mg (por ejemplo, una dosis de 15 mg, 17,5 mg o 20 mg). En algunas realizaciones, la primera pluma administra una dosis de 10 mg y la segunda pluma administra una dosis de 15 mg. En algunas realizaciones, la primera pluma administra una dosis de 15 mg y la segunda pluma administra una dosis de 20 mg.

20 En otro aspecto, la presente invención proporciona kits que comprenden dispositivos de pluma inyectables individuales tal como se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, un kit comprende una pluralidad de dispositivos de pluma inyectables individuales (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más plumas en un kit). En algunas realizaciones, el kit comprende dos o más dispositivos de pluma inyectables individuales que se preprograman para administrar una cantidad de dosificación fija, en los que la cantidad de dosificación de la mañana y la cantidad de dosificación de la noche son cantidades y/o concentraciones diferentes. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el kit comprende una primera pluma (por ejemplo, para la administración de la mañana) que administra una dosis en el intervalo de 5-15 mg (por ejemplo, una dosis de 5 mg, 7,5 mg, 10 mg, 12,5 mg o 15 mg) y comprende además una segunda pluma (por ejemplo, para la administración de la noche) que administra una dosis más alta en el intervalo de 15-20 mg (por ejemplo, una dosis de 15 mg, 17,5 mg o 20 mg). En algunas realizaciones, el kit comprende una primera pluma que administra una dosis de 10 mg y una segunda pluma que administra una dosis de 15 mg. En algunas realizaciones, el kit comprende una primera pluma que administra una dosis de 15 mg y una segunda pluma que administra una dosis de 20 mg.

30 3.3.2. Bomba subcutánea

En una realización, los métodos comprenden el uso de una bomba subcutánea, y la invención proporciona tales bombas que contienen exendina(9-39) formulada tal como se describe en el presente documento para administración subcutánea. En general, esta metodología es muy conveniente para el paciente. Las composiciones para tales métodos proporcionados por la invención incluyen formulaciones de disolución y polvo liofilizado secado por congelación para su reconstitución. Véase, por ejemplo, Kumareswaran *et al.*, *Discovery Medicine*, 2012, 13:159-170.

40 3.4. Desenlaces del tratamiento

En algunas realizaciones, los pacientes tratados con las composiciones y los métodos descritos en el presente documento muestran una mejora en uno o más síntomas de hipoglucemia, incluyendo, pero sin limitarse a, síntomas neuroglucopénicos, síntomas beta-adrenérgicos o niveles de glucosa en plasma.

45 En algunas realizaciones, tratamiento en el paciente adulto o pediátrico típico se refiere al tratamiento de tal manera que el nivel mínimo de glucosa en plasma posprandial se mantiene por encima de una concentración de aproximadamente 55 mg/dl (3,0 mmol/litro) basándose en las normas para la práctica clínica de la Sociedad Endocrina (*Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2009, 94(3):709-728), y se reducen los síntomas de la hipoglucemia. Idealmente, se mantienen concentraciones normales de glucosa en plasma, reconociendo los expertos en la técnica que, en los seres humanos, se prefiere una glucemia de 65 mg/dl o mayor.

50 En algunas realizaciones, tratamiento en un paciente se refiere al tratamiento de tal manera que se logra al menos un aumento del 15% en el nivel mínimo de glucosa en plasma posprandial en relación con el nivel inicial (por ejemplo, antes del inicio del tratamiento). En algunas realizaciones, tratamiento en un paciente se refiere al tratamiento de tal manera que, para un paciente que tiene un nivel mínimo de glucosa en plasma posprandial ≤ 50 mg/dl en el nivel inicial (por ejemplo, antes del inicio del tratamiento), se logra un aumento en el nivel mínimo de glucosa en plasma posprandial hasta ≥ 55 mg/dl en relación con el nivel inicial.

60 El nivel mínimo de glucosa en plasma puede medirse, por ejemplo, mediante una prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO) o una prueba de tolerancia a la comida (PTC) tal como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, tratamiento en un paciente se refiere al tratamiento de tal manera que se logra una disminución estadísticamente significativa de la gravedad de uno o más síntomas de hipoglucemia en general durante una PTGO o PTC y/o de los síntomas neuroglucopénicos provocados durante el periodo de "caída" de la glucosa de la PTGO o PTC en relación con el nivel inicial (por ejemplo, antes del inicio del tratamiento).

3.5. Aumento de la dosificación

5 Algunos médicos pueden desear realizar el tratamiento con una dosis baja o inicial (de partida) (por ejemplo, 5-7,5 mg), aumentarla si la dosis inicial no da como resultado un control glucémico aceptable y mantener la dosis inicial si el control glucémico es suficiente.

10 En algunas realizaciones, se administra al sujeto una dosis de partida de 10 mg de exendina(9-39) en una dosis de la mañana y 10 mg de exendina(9-39) en una dosis de la noche. Si esta dosis no da como resultado una cobertura suficiente por la mañana (por ejemplo, no da como resultado un control glucémico suficiente en el momento de la comida de la mañana), la dosis de la noche puede aumentarse, por ejemplo, hasta 15 mg de exendina(9-39) como dosis de la noche. En algunas realizaciones, se administra al sujeto una dosis de partida de 15 mg de exendina(9-39) en una dosis de la mañana y 15 mg de exendina(9-39) en una dosis de la noche. Si esta dosis no da como resultado una cobertura suficiente por la mañana, la dosis de la noche puede aumentarse, por ejemplo, hasta 20 mg de exendina(9-39) como dosis de la noche.

20 Estos y otros beneficios de la invención se apreciarán más detalladamente al contemplar los ejemplos a continuación y las figuras adjuntas, que demuestran que la administración de exendina(9-39) tal como se describe en el presente documento puede proporcionar un beneficio inmediato y significativo a los pacientes posbariátricos que padecen fluctuaciones hipoglucémicas después de consumir cantidades normales de glucosa. Basándose en las recomendaciones de la Sociedad Americana de Cirugía Metabólica y Bariátrica (ASMBS) (véase asmbs.org/patients/life-after-bariatric-surgery), se recomienda a los pacientes sometidos a cirugía bariátrica a limitar su ingesta de hidratos de carbono a 50 gramos al día o menos. A los pacientes proporcionados en los ejemplos se les administraron 75 gramos de hidratos de carbono dentro de un periodo de tiempo de 20 minutos, lo que equivale a 1,5 veces la ingesta diaria total recomendada por la ASMBS. Por tanto, basándose en el éxito demostrado en los ejemplos, en los que la administración de exendina(9-39) previno la hipoglucemia y mejoró considerablemente los síntomas después de una alta carga de hidratos de carbono, en condiciones habituales, se anticiparía una eficacia similar o mayor.

30 4. Ejemplos

4.1. Ejemplo 1: La infusión i.v. continua de exendina(9-39) revierte eficazmente la hipoglucemia hiperinsulinémica y los síntomas asociados

35 Se llevó a cabo un estudio de fase 1 cruzado, con enmascaramiento, controlado con placebo, aleatorizado para determinar si la infusión i.v. continua de exendina(9-39) puede revertir eficazmente la hipoglucemia hiperinsulinémica y los síntomas asociados. La exendina(9-39) se adquirió como un péptido liofilizado: acetato de exendina(9-39), 10 mg/vial, de Bachem (Clinalfa, Läufelfingen, Suiza). Para la preparación del líquido de infusión i.v., se solubilizó la exendina(9-39) liofilizada con 20 ml de solución salina normal (NS) al 0,9% para cada 10 mg de péptido, después se diluyó en 100 ml de NS al 0,9% y 50 ml de albúmina sérica humana al 25%, en una bolsa de infusión de 1 l libre de DEHP y libre de PVC. Se cubrió la bolsa con una cubierta de bolsa i.v. opaca para ayudar con el enmascaramiento. Se preparó una bolsa de aspecto idéntico, que constituía el líquido de infusión de placebo, que contenía el mismo volumen de líquido de infusión (NS únicamente) sin la presencia de péptido o albúmina. Se aleatorizaron ocho pacientes con hipoglucemia hiperinsulinémica para recibir una infusión de placebo y una infusión de exendina(9-39) en un diseño cruzado durante una prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO) en dos días independientes separados no más de 2 semanas. Se les pidió a los pacientes que ayunaran durante 12 horas antes de la infusión del fármaco de estudio o del placebo, y las infusiones y las PTGO se llevaron a cabo en el Centro de Unidad de Investigación Traslacional (CTRU) de la Universidad de Stanford. El día de admisión al CTRU, se colocaron 2 vías i.v. para la infusión del fármaco de estudio y la extracción de sangre. Se extrajo sangre en ayunas a T-40 minutos. A T-30 minutos, se administró un bolo i.v. de 7.500 pmol/kg de exendina(9-39) o placebo a lo largo de 1 minuto, al tiempo que se inició una infusión i.v. continua de exendina(9-39) a una velocidad de 500 pmol/kg/min (proporcionando una dosis de infusión de aproximadamente 0,35 mg/kg) o placebo (solución salina al 0,9%) y se ejecutó durante 210 minutos. A T+0 minutos, se inició una PTGO, en la que se instruyó a los pacientes a que consumieran una bebida de glucosa de 75 g a lo largo de 55 20 minutos.

60 Se recogieron muestras de plasma a T-40, T+0, T+30, T+45, T+60, T+90, T+105, T+120, T+150, T+180 y en cada punto de tiempo se llevaron inmediatamente al laboratorio para su procesamiento. Después se llevaron a cabo los siguientes ensayos: glucosa, insulina, GLP-1, GIP, glucagón y exendina(9-39). Si los niveles de glucosa disminuyeron hasta 50 mg/dl o menos, se detuvo la prueba y los investigadores intervinieron según fuese necesario para normalizar la glucosa. A T-40 y simultáneamente con las extracciones de sangre programadas, los pacientes completaron repetidamente un cuestionario de puntuación de síntomas. Este cuestionario se adaptó a partir de dos herramientas de evaluación de hipoglucemia validadas, segregando los síntomas en tres factores claros: autonómico, neuroglucopéxico y malestar general, y después añadiendo una escala de clasificación de la gravedad, de tal manera que los pacientes clasificaron la gravedad de cada síntoma notificado desde 1-5 (1: lo menos grave; 5: lo más grave).

Tal como se muestra en la figura 1B y en la tabla 1, los pacientes mostraron un nivel mínimo de glucosa promedio de aproximadamente 80 mg/dl durante la infusión de exendina(9-39), en comparación con un nivel mínimo <50 mg/dl durante la infusión de placebo. Los pacientes también mostraron una disminución considerable de las concentraciones de insulina en plasma durante la infusión de exendina(9-39) (véase la figura 1A y la tabla 1).

Se midieron las respuestas metabólicas, incluyendo las respuestas de GLP-1, GIP y glucagón en plasma, tal como se muestra en las figuras 2A-C y en la tabla 2. Aunque se calcularon los valores de área bajo la curva (AUC) tal como se muestra en las tablas 1 y 2, la presentación gráfica de los datos, tal como se presenta en las figuras 1 y 2, es más informativa porque las PTGO de los sujetos se interrumpieron prematuramente si se volvían hipoglucémicos (tal como sucedió en el 100% de los casos durante la infusión de placebo). Para el cálculo de AUC en casos de cese prematuro de la PTGO, se siguió adelante con el último valor. También se evaluó a los pacientes para determinar los síntomas hipoglucémicos durante la infusión de exendina(9-39) frente a la infusión de placebo. Tal como se muestra en la figura 3, la infusión continua de exendina(9-39) mejoró sustancialmente los síntomas de hipoglucemia, tal como se demuestra por la puntuación de evaluación de síntomas hipoglucémicos total drásticamente reducida. Además, para aislar los síntomas asociados con el aumento y la disminución de glucosa, se incluyeron dos subpuntuaciones: la puntuación de "disminución de glucosa", que engloba los síntomas asociados con la disminución de glucosa hasta el nivel mínimo, y la puntuación de "aumento de glucosa", que engloba los síntomas asociados con el aumento de glucosa hasta el máximo.

Los resultados demuestran que la infusión i.v. continua de exendina(9-39) revierte eficazmente la hipoglucemia hiperinsulinémica y los síntomas asociados.

4.2. Ejemplo 2: La inyección de bolo i.v. único de exendina(9-39) revierte la hipoglucemia únicamente si se programa para coincidir con las concentraciones máximas de GLP-1 en plasma

Se realizó un ensayo para evaluar si una dosis de bolo único de exendina(9-39) podía prevenir la hipoglucemia en una PTGO de 75 gramos con sujetos con hipoglucemia hiperinsulinémica. Dos sujetos con hipoglucemia hiperinsulinémica ingresaron en la clínica de investigación después de un ayuno durante la noche de 12 horas. Se preparó un bolo i.v. de 7.500 pmol/kg de exendina(9-39) tal como en el ejemplo 1. Los sujetos consumieron una glucola de 75 gramos a T=0. Se predice que los niveles de GLP-1 alcanzan el máximo a aproximadamente 60 min después de la administración de glucola (véase Myint *et al.*, European Journal of Endocrinology, 2012, 166:951-955; véase también la figura 4D). Después del consumo de glucola, se infundió por vía intravenosa a los sujetos con un bolo i.v. de exendina(9-39) a lo largo de 1 minuto, alterándose el momento de la administración del bolo i.v. en relación con la PTGO de 75 gramos en días diferentes de la siguiente manera: T=0, T+20 y T+50. Se sometió a ensayo el plasma a T-40, T+0, T+30, T+45, T+60, T+90, T+105, T+120, T+150, T+180 y en cada punto de tiempo se llevaron inmediatamente al laboratorio para su procesamiento. Se tomaron mediciones de glucosa, insulina, GLP-1, GIP, glucagón y exendina(9-39). Se evaluó la biodisponibilidad/perfil PK de exendina(9-39) i.v. mediante $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$, $AUC_{0-\infty}$, $AUC_{\acute{u}ltimo}$, VZ, CL y $T_{1/2}$. Se midió la concentración de exendina(9-39) mediante radioinmunoensayo (RIA) tal como se describe en Kielgast *et al.*, Diabetes, 2011, 60:1599-1607.

Tal como se muestra en las figuras 4A-C, la administración de dosis del bolo i.v. de exendina(9-39) a los 0 minutos o 20 minutos tras la administración de glucola no previno la hipoglucemia, mientras que la administración de dosis a los 50 minutos después de la administración de glucola sí previno la hipoglucemia. Véase la leyenda de las figuras. Las figuras 4A-D demuestran que, para evitar un nivel mínimo de glucosa por debajo de 50 mg/dl, son necesarias concentraciones máximas de exendina(9-39) en plasma en el intervalo de 500-600 nmol/l mediante radioinmunoensayo en el momento de las concentraciones máximas de GLP-1 en plasma. Los resultados mostrados en las figuras 4A-D sugieren que, en ausencia de infusión i.v. continua, o en ausencia de un bolo i.v. programado de manera precisa para coincidir con las concentraciones máximas de GLP-1 en plasma predichas, no puede prevenirse la hipoglucemia.

Los niveles de exendina(9-39) en plasma pueden medirse usando un radioinmunoensayo (RIA) tal como se describe generalmente en Kielgast *et al.*, Diabetes, 2011, 60:159-1607. Los niveles de exendina(9-39) en plasma pueden medirse usando la metodología de cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (CL-EM) tal como se describe generalmente en Lasaosa *et al.*, J. Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2014, 0:186-191. En la discusión en el presente documento se hace referencia a ambos métodos, y en la bibliografía científica se usan ambos métodos. Se observó que la medición de los valores de exendina(9-39) en plasma usando RIA fueron significativamente mayores que los valores determinados usando CL-EM. Se cree que los valores de CL-EM son más precisos. A modo de definición, una concentración de exendina(9-39) reivindicada (por ejemplo, $C_{m\acute{a}x}$) se refiere a la cantidad absoluta de exendina(9-39) que puede determinarse mediante CL-EM u otro método igualmente cuantitativo.

La figura 5A representa el promedio de concentraciones de exendina(9-39) en plasma de ocho pacientes en diversos puntos de tiempo tras un bolo i.v. de exendina(9-39) de 7.500 pmol/kg a los T-30 minutos, seguido de una infusión i.v. continua a una velocidad de 500 pmol/kg/min a lo largo de 210 minutos tal como se describe en

el ejemplo 1. Véase la línea de gráfica con barras de error. También se ha notificado que, en sujetos sanos, una infusión intravenosa de exendina(9-39) a 500 pmol/kg/min revierte por completo el efecto de reducción de glucosa de GLP-1. Véase Edwards *et al.*, Diabetes, 1999, 48:86-93. Basándose en las concentraciones de exendina(9-39) en plasma medidas tal como se muestra en la figura 5A, se supone que es necesaria una

5 concentración de exendina(9-39) en plasma constante de aproximadamente 500 nmol/l (tal como se mide mediante radioinmunoensayo) o de aproximadamente 140 nmol/l (tal como se mide mediante CL-EM) para la eficacia.

La figura 5A también muestra la concentración de exendina(9-39) en plasma proyectada que se esperaría a partir de la administración de un bolo i.v. único de exendina(9-39) de 7.500 pmol/kg a T-30 minutos. Tal como se notificó previamente, la semivida de una única dosis de exendina(9-39) administrada por vía intravenosa es de aproximadamente 33,5 minutos (véase Edwards *et al.*, Diabetes, 1999, 48:86-93). Extrapolando a partir de la concentración de exendina(9-39) medida a T=0 (aproximadamente 300 nmol/l tal como se mide mediante RIA), se concluyó que la concentración de exendina a T=-30 es de aproximadamente 600 nmol/l, dada la semivida de exendina(9-39) administrada por vía intravenosa. En vista de la respuesta farmacocinética proyectada para la exendina(9-39) y el transcurso de tiempo del desarrollo de hipoglucemia tras una comida (normalmente 1-3 horas después de las comidas, con niveles máximos de GLP-1 esperados a aproximadamente 60 minutos después de la comida), una única dosis de bolo i.v. administrada antes de o con una comida probablemente no sería eficaz para el tratamiento de hipoglucemia hiperinsulinémica, porque se esperaría que la concentración de exendina(9-39) en plasma fuese muy baja en el momento predicho de niveles máximos de GLP-1. Además, incluso si se administrara un bolo i.v. que tiene una dosis más alta de exendina(9-39), se esperaría que mostrara propiedades farmacocinéticas similares de una semivida corta y una rápida eliminación a partir del plasma. En vista del transcurso de tiempo para el desarrollo de hipoglucemia y el periodo de latencia entre la hora de una comida y los niveles máximos de GLP-1 proyectados, ni siquiera se esperaría que incluso un bolo i.v. con una dosis más alta de exendina(9-39) fuese eficaz en la prevención de la hipoglucemia a menos que se programara de manera

10 de la administración de un bolo i.v. único de exendina(9-39) de 7.500 pmol/kg a T-30 minutos. Tal como se notificó previamente, la semivida de una única dosis de exendina(9-39) administrada por vía intravenosa es de aproximadamente 33,5 minutos (véase Edwards *et al.*, Diabetes, 1999, 48:86-93). Extrapolando a partir de la concentración de exendina(9-39) medida a T=0 (aproximadamente 300 nmol/l tal como se mide mediante RIA), se concluyó que la concentración de exendina a T=-30 es de aproximadamente 600 nmol/l, dada la semivida de exendina(9-39) administrada por vía intravenosa. En vista de la respuesta farmacocinética proyectada para la exendina(9-39) y el transcurso de tiempo del desarrollo de hipoglucemia tras una comida (normalmente 1-3 horas después de las comidas, con niveles máximos de GLP-1 esperados a aproximadamente 60 minutos después de la comida), una única dosis de bolo i.v. administrada antes de o con una comida probablemente no sería eficaz para el tratamiento de hipoglucemia hiperinsulinémica, porque se esperaría que la concentración de exendina(9-39) en plasma fuese muy baja en el momento predicho de niveles máximos de GLP-1. Además, incluso si se administrara un bolo i.v. que tiene una dosis más alta de exendina(9-39), se esperaría que mostrara propiedades farmacocinéticas similares de una semivida corta y una rápida eliminación a partir del plasma. En vista del transcurso de tiempo para el desarrollo de hipoglucemia y el periodo de latencia entre la hora de una comida y los niveles máximos de GLP-1 proyectados, ni siquiera se esperaría que incluso un bolo i.v. con una dosis más alta de exendina(9-39) fuese eficaz en la prevención de la hipoglucemia a menos que se programara de manera

15 se precisara para coincidir con los niveles máximos de GLP-1 en plasma predichos.

4.3. Ejemplo 3: Una única dosis de exendina(9-39) inyectada por vía subcutánea revierte eficazmente la hipoglucemia hiperinsulinémica y los síntomas asociados

Tal como se describió anteriormente en el ejemplo 1, se halló que un bolo i.v. de 7.500 pmol/kg de exendina(9-39) más una infusión i.v. continua de exendina(9-39) a una velocidad de 500 pmol/kg/min a lo largo de 210 minutos fue eficaz en la reversión de la hipoglucemia hiperinsulinémica y los síntomas asociados. Para el péptido exenatida, se ha notificado que la cinética de absorción de la exenatida en ratas se aproxima más a una cinética de absorción en seres humanos. Véase Chen *et al.*, Interspecies Modeling Pharm Res., 2013, 30:751-760. Los datos farmacocinéticos de aumento de dosis intravenosa y subcutánea en ratas predicen que, en seres humanos, la C_{máx} de exendina(9-39) administrada por vía subcutánea sería sustancialmente más baja que la C_{máx} de exendina(9-39) administrada por vía intravenosa. Por consiguiente, se esperaba que fuese necesaria una dosis más alta de exendina(9-39) para la administración subcutánea, en comparación con la administración intravenosa, para que la exendina(9-39) fuese eficaz en la reversión de la hipoglucemia hiperinsulinémica.

Para comparar los parámetros farmacocinéticos de exendina(9-39) administrada por vía intravenosa o por vía subcutánea, se administró un bolo i.v. único de 7.500 pmol/kg de exendina(9-39) o una única inyección subcutánea de 7.500 pmol/kg de exendina(9-39) a un sujeto en dos días independientes. El bolo i.v. consistía en 0,025 mg/kg de exendina(9-39) liofilizada (que equivale a una dosis de aproximadamente 2 mg para un paciente de 80 kg) solubilizada en 20 ml por 10 mg de exendina(9-39) (aproximadamente 4 ml de solución salina normal) y después se diluyó en 100 ml de solución salina normal al 0,9% por cada 10 mg de exendina(9-39) (aproximadamente 20 ml de solución salina normal al 0,9%), a lo que se le añadieron aproximadamente 10 ml de albúmina sérica humana al 25% (50 ml de albúmina sérica humana al 25% por cada 10 mg de exendina(9-39)), para un volumen total de infusión de bolo i.v. de aproximadamente 34 ml. Se administró la infusión de bolo i.v. a lo largo de 1 minuto. La inyección subcutánea consistía en 0,025 mg/kg de exendina(9-39) liofilizada (que equivale a una dosis de aproximadamente 2 mg para un paciente de 80 kg) solubilizada en 0,2 ml de solución salina normal y diluida adicionalmente en 0,5 ml de solución salina normal hasta un volumen total de 0,7 ml para inyección subcutánea en el brazo. Se midieron las concentraciones de exendina(9-39) en plasma mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (CL-EM) tal como se describe en Lasaosa *et al.*, ejemplo 1 anteriormente. Tal como se muestra en la figura 5B, la C_{máx} que se observó en la administración subcutánea de exendina(9-39) fue significativamente más baja que la C_{máx} observada en la administración intravenosa de exendina(9-39), respaldando además la hipótesis de que, para la administración subcutánea, sería necesaria una dosis más alta de exendina(9-39) para prevenir la hipoglucemia hiperinsulinémica, en comparación con las dosis eficaces de exendina(9-39) administrada por vía intravenosa.

Se realizó un estudio de dosis creciente única (SAD) para evaluar la farmacocinética, la eficacia y la tolerabilidad local de la administración de exendina(9-39) mediante inyección subcutánea. Para el estudio de SAD, se aleatorizaron nueve sujetos con hipoglucemia hiperinsulinémica en uno de cuatro experimentos que representaban, cada uno, una de cuatro dosis subcutáneas de exendina(9-39): 7.500 pmol/kg, 37.500 pmol/kg, 75.000 pmol/kg o 112.500 pmol/kg. Se adquirió acetato de exendina(9-39) liofilizado, 10 mg/vial, de Bachem

(Clinalfa, Läuelfingen, Suiza) para cada experimento, con cada vial de 10 mg solubilizado en 200 μ l de solución salina normal, después diluido adicionalmente con solución salina normal hasta una dosis total de 7.500 pmol/kg, 37.500 pmol/kg, 75.000 pmol/kg o 112.500 pmol/kg (2,0 mg, 10 mg, 20 mg o 30 mg de exendina(9-39), respectivamente, basándose en un peso de paciente de 80 kg). El volumen total de cada líquido inyectado se mantuvo constante, con una dilución adicional del líquido inyectado, según fuese necesario, para dar como resultado un volumen total de líquido inyectado de 0,7 ml. De los nueve sujetos, se aleatorizaron cinco sujetos para recibir una inyección subcutánea de 7.500 pmol/kg, 37.500 pmol/kg, 75.000 pmol/kg o 112.500 pmol/kg (2, 10, 20 y 30 mg, respectivamente, basándose en un paciente de 80 kg) en un volumen de 0,7 ml de solución salina normal, y cuatro sujetos recibieron dos o más inyecciones de 0,7 ml de 75.000 pmol/kg o 112.500 pmol/kg con el fin de mantener una concentración de líquido inyectado de aproximadamente 15 mg/ml o menos.

Los sujetos ayunaron durante la noche durante 12 horas e ingresaron en la clínica de investigación. Se colocó una vía i.v. en el paciente para la extracción de sangre. Se extrajo sangre en ayunas. A los sujetos se les inyectó por vía subcutánea en el abdomen la dosis de exendina(9-39) a la que se les aleatorizó, y desconocían la dosis que estaban recibiendo. Para los sujetos que recibieron una dosis de 37.500 pmol/kg, 75.000 pmol/kg o 112.500 pmol/kg, se inició una PTGO a T+0 minutos, en la que se pidió a los pacientes que consumieran una bebida de glucosa de 75 g a lo largo de 20 minutos. Se recogieron muestras de plasma a T-10, T-0, T+15, T+30, T+45, T+60, T+75, T+90, T+105, T+120, T+135, T+150, T+165, T+180, T+210, T+240, T+300, T+480 y T+1440, y en cada punto de tiempo se llevaron las muestras inmediatamente al laboratorio para su procesamiento.

Se evaluaron los siguientes parámetros: 1) concentración de glucosa, insulina, glucagón, GLP-1 y GIP en plasma; 2) biodisponibilidad/perfil PK de exendina(9-39) subcutánea: $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$, $AUC_{0-\infty}$, $AUC_{\acute{u}ltimo}$, VZ, CL, $T_{1/2}$ y biodisponibilidad; 3) tolerabilidad local después de la inyección subcutánea de exendina(9-39) utilizando una escala visual analógica (EVA) y una escala de calificación numérica (ECN); y 4) tumefacción local tal como se mide mediante un compás calibrador a intervalos de tiempo a lo largo de los ejes largo y corto de la tumefacción y la altura de la protuberancia. También se evaluaron los pacientes para determinar los síntomas hipoglucémicos usando un cuestionario de puntuación de síntomas en el que los pacientes clasificaron la gravedad de los síntomas de hipoglucemia específicamente recitados desde 1-5 (1: lo menos grave; 5: lo más grave) en puntos de tiempo específicos, a partir del cual se calcularon la puntuación de "aumento de glucosa", la puntuación de "disminución de glucosa" y la puntuación de "todos los puntos de tiempo". Se midió la concentración de exendina(9-39) mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas tal como se describe en Lasaosa *et al.*, ejemplo 1 anteriormente.

Para los 8 sujetos a los que se les administró una dosis subcutánea de 37.500 pmol/kg, 75.000 pmol/kg o 112.500 pmol/kg, se midieron las concentraciones de glucosa en plasma durante la PTGO. (Se suponía que la dosis de 7.500 pmol/kg que se administró al sujeto 1 era por debajo de la terapéutica, por lo que no se administró una PTGO a este sujeto.) Para los ocho sujetos restantes a los que se les administró una dosis subcutánea de exendina(9-39) y una PTGO, ninguno de los sujetos se volvió hipoglucémico después de la inyección subcutánea a dosis que oscilaban entre 35.000 y 112.500 pmol/kg. Por tanto, se logró la prevención de la hipoglucemia a todos los niveles de dosis subcutánea. En cambio, todos los sujetos que recibieron placebo se volvieron hipoglucémicos durante la PTGO. Tal como se muestra en la figura 6, el nivel mínimo en plasma promedio para los 8 sujetos a los que se les administró una dosis subcutánea de exendina(9-39) fue de 78 mg/dl, frente a <50 mg/dl para el placebo. Además, tal como se muestra en la tabla 3, la respuesta sintomática promedio de los sujetos mejoró significativamente para los sujetos a los que se les administró la dosis subcutánea de exendina(9-39) y la PTGO, tal como se mide mediante una puntuación global de síntomas drásticamente reducida (14,6 frente a 20,6 para el placebo) y puntuación de disminución de síntomas (4 frente a 22 para el placebo).

Tal como se muestra en la tabla 4, la administración subcutánea de exendina(9-39) como una única inyección a una dosis que oscila entre 37.500 pmol/kg y 112.500 pmol/kg (aproximadamente 10-30 mg) y un volumen constante de 0,7 ml fue eficaz para prevenir la hipoglucemia, por ejemplo tal como se muestra por el nivel mínimo de glucosa en plasma. Una concentración de líquido inyectado de aproximadamente 15 mg/ml (la dosis de 37.500 pmol/kg) dio como resultado la respuesta farmacodinámica más alta, tal como se define por la $C_{m\acute{a}x}$ y la $C_{m\acute{a}x}$ normalizada con respecto a la dosis. Para los sujetos a los que se les administró por vía subcutánea exendina(9-39) a concentraciones relativamente equivalentes (aproximadamente 13-16 mg/ml), tal como se muestra en la tabla 5, la administración de exendina(9-39) fue eficaz para prevenir la hipoglucemia, por ejemplo tal como se muestra por el nivel mínimo de glucosa en plasma. Para estos pacientes, la tabla 5 muestra que hubo una respuesta PK cada vez más favorable al aumentar la dosis, tal como se define por $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{1/2}$.

Tal como se muestra en la figura 8, un halló una fuerte correlación entre el porcentaje de aumento de las concentraciones de nivel mínimo de glucosa en plasma (que comparan el nivel mínimo de glucosa en plasma después de la inyección subcutánea de exendina(9-39) con el nivel mínimo de glucosa en plasma de nivel inicial) y las concentraciones máximas de exendina(9-39) en plasma ($C_{m\acute{a}x}$).

Sorprendentemente, la eficacia clínica lograda para las dosis administradas por vía subcutánea de exendina(9-39) sometidas a prueba en este estudio de SAD fue equivalente a la eficacia que se logró mediante la infusión i.v. continua de cantidades más grandes de exendina(9-39) tal como se describe en el ejemplo 1, tal como se

muestra, por ejemplo, en la tabla 3 para los parámetros de nivel mínimo de glucosa en plasma, AUC de glucosa y puntuación de disminución de síntomas.

5 En vista de la eficacia de los niveles de dosis administrados por vía subcutánea tal como se demuestra en este ejemplo, se evalúa la eficacia, la seguridad, la tolerabilidad y la farmacocinética de la administración subcutánea de exendina(9-39) a lo largo de un periodo de tiempo definido, por ejemplo, tal como se describe en el ejemplo 4 y el ejemplo 5 a continuación.

10 4.4. Ejemplo 4: Ensayo de múltiples dosis crecientes para evaluar la eficacia, la tolerabilidad y el perfil farmacocinético de exendina(9-39) BID en pacientes con hipoglucemia hiperinsulinémica posbariátrica

Este ejemplo describe un protocolo de estudio clínico de fase 2a para evaluar la seguridad, la tolerabilidad, la eficacia y el perfil farmacocinético de exendina(9-39) BID administrada por vía subcutánea a lo largo de 3 días a 15 pacientes con hipoglucemia hiperinsulinémica posbariátrica.

Tabla B

<u>Objetivos y criterios de valoración del estudio:</u>	
<u>Objetivo</u>	<u>Criterio de valoración</u>
Primario:	
• Evaluar el efecto del tratamiento de Ex9 BID s.c. sobre la <u>glucosa en plasma</u>	Tasa de respuesta en el nivel mínimo de glucosa en plasma, definida como la proporción de pacientes en cada rama de dosis sin glucosa en plasma ≤ 50 mg/dl en cualquier punto de tiempo desde 0-180 minutos durante la PTGO el día 3 de tratamiento frente al día 0.
Secundario:	
• Evaluar el efecto del tratamiento de Ex9 BID s.c. sobre los <u>síntomas de hipoglucemia</u>	Mejora en la puntuación compuesta de síntomas en comparación con el nivel inicial durante la PTGO el día 3 de tratamiento frente al día 0.
• Evaluar la farmacocinética de Ex9 BID s.c. en cada nivel de dosis	Los parámetros PK en plasma incluyen AUC_{0-12h} , $C_{máx}$, $T_{máx}$, $T_{1/2}$ y $C_{mín}$, después de la inyección s.c.
• Evaluar la seguridad y la tolerabilidad de Ex9 BID s.c. en cada nivel de dosis	AA, parámetros de laboratorio, constantes vitales; puntuación NMR, puntuación EVA.

20 Visión general: el estudio es un estudio de diseño cruzado, de dosis aleatoria, con enmascaramiento único, que está llevándose a cabo en la Facultad de Medicina de la Universidad de Stanford. Todas las visitas de los sujetos tuvieron lugar en la Unidad de Investigación Clínica y Traslacional (CTRU). Se asignarán de dieciséis a veinte sujetos elegibles a uno de cinco niveles de dosis (2,5 mg, 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg) para recibir una inyección subcutánea de exendina(9-39) BID administrada durante tres días. Después de llevar a cabo una prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO) de nivel inicial el día 0, en la que se realizarán análisis metabólicos y sintomáticos, los sujetos regresarán a la clínica de investigación el día 1 para iniciar una pauta de administración de dosis BID durante 3 días. Durante este tiempo, los sujetos regresarán diariamente para una analítica en ayunas por la mañana, una dosis de la mañana, toma de muestras PK y una muestra mínima por la noche, seguido inmediatamente de la segunda dosis diaria a T+720 min. Se medirán la seguridad, la tolerabilidad y los parámetros farmacocinéticos diariamente los tres días completos del estudio, después de lo cual se realiza una PTGO de repetición la mañana del día 3 después de la dosis de la mañana para evaluar la eficacia (sin hipoglucemia y reducción de la puntuación compuesta de síntomas). El día 4 consistirá únicamente en monitorizar la seguridad clínica con una extracción mínima de plasma 1440 minutos después de la última inyección el día 3. Se espera que este estudio, si se realiza de manera apropiada, demuestre que la administración de dosis BID puede dar como resultado una actividad terapéutica significativa en cada rama de administración de dosis. Véase la figura 9.

35 Aleatorización/enmascaramiento: para los primeros cuatro sujetos dosificados, los sujetos se asignaron aleatoriamente a uno de los siguientes niveles de dosis: 2,5 mg, 5 mg o 10 mg. Los demás sujetos se asignarán aleatoriamente a uno de los siguientes niveles de dosis: 10 mg, 15 mg o 20 mg. Todos los sujetos permanecerán con enmascaramiento en todo momento. Con la excepción del IP y el subinvestigador que permanecerán sin enmascaramiento con fines de seguridad, todo el personal del centro, incluyendo las enfermeras y los coordinadores del estudio, que llevan a cabo encuestas de síntomas de los pacientes, permanecerán con enmascaramiento para la asignación del tratamiento.

Preparación y dispensación del fármaco de estudio: todas las dosis se prepararán hasta una concentración total ≤ 15 mg/ml de exendina(9-39) en solución salina normal. Cada vial de 10 mg de exendina(9-39) liofilizada se diluirá o bien en 1 ml de solución salina normal, si se administra una concentración de 10 mg/ml, o bien en 0,7 ml de solución salina normal, si se administra una concentración de 14 mg/ml. Para las dosis que requieren un volumen de inyección total >1 ml, se emplearán 2 inyecciones.

Prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO): la PTGO consistirá en la administración de una bebida de glucosa de 75 gramos con 1 gramo de acetaminofeno triturado que va a consumirse a lo largo de 20 minutos.

Ensayos: metabólicos: glucosa, péptido C, insulina, GLP-1, GIP, glucagón; PK: AUC_{0-720} , $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$, $T_{1/2}$, $C_{m\acute{i}n}$.

Perfil PK anticipado: basándose en los resultados anteriores para una única inyección subcutánea (tal como se muestra en el ejemplo 3), se anticipó que, después de la administración de una dosis de 5 mg, 10 mg, 15 mg o 20 mg, la concentración de exendina(9-39) en plasma volvería a < 20 ng/ml o incluso próxima a 0 ng/ml en el plazo de 720 minutos de inyección. Sin embargo, basándose en los resultados intermedios de la administración de dosis BID durante 3 días, tal como se muestra en la figura 10 y tal como se comenta a continuación, se espera que la administración de una dosis de 10-30 mg dé como resultado un nivel mínimo más alto, tal como un nivel mínimo de aproximadamente 30-80 ng/ml en el plazo de 720 minutos tras la inyección.

Se espera que una dosificación de 5 mg, 10 mg, 15 mg o 20 mg de exendina(9-39) BID demuestre un beneficio terapéutico para uno o más pacientes en el ensayo de 3 días. Un "beneficio terapéutico" puede definirse con referencia al efecto sobre la glucosa en plasma. Por ejemplo, en algunos casos, una dosificación de exendina(9-39) proporciona un beneficio terapéutico para un paciente cuando el paciente no tiene glucosa en plasma ≤ 50 mg/dl en ningún punto de tiempo desde 0-180 minutos durante la PTGO el día 3 de tratamiento en comparación con el día 0. En algunos casos, una dosificación de exendina(9-39) proporciona un beneficio terapéutico para un paciente cuando el paciente tiene un aumento de al menos el 15% en el nivel mínimo de glucosa en plasma durante la PTGO el día 3 en relación con el día 0. En algunos casos, una dosificación de exendina(9-39) proporciona un beneficio terapéutico para un paciente cuando el paciente tiene un aumento de al menos el 15% en el AUC de glucosa. En algunos casos, una dosificación de exendina(9-39) proporciona un beneficio terapéutico para un paciente cuando el paciente tiene, en general, una disminución estadísticamente significativa de la gravedad de uno o más síntomas de hipoglucemia durante la PTGO y/o síntomas neuroglucopénicos provocados durante el periodo de "caída" de la glucosa de la PTGO en relación con el día 0. En algunos casos, una dosificación de exendina(9-39) proporciona un beneficio terapéutico para un paciente que tiene un nivel mínimo de glucosa en plasma ≤ 50 mg/dl en el nivel inicial cuando el paciente muestra un nivel mínimo de glucosa en plasma ≥ 55 mg/dl después de un periodo de tratamiento definido (por ejemplo, después de un periodo de tratamiento de 3 días).

Resultados intermedios

Se aleatorizaron cuatro sujetos en uno de tres niveles de dosis (2,5 mg, 5 mg o 10 mg) para recibir una inyección subcutánea de exendina(9-39) BID administrada durante tres días.

Al paciente 1 se le administró una dosis de 5 mg a una concentración de 10 mg en 1 ml, administrada por vía subcutánea en el abdomen. Para el paciente 1, se observó un aumento del 13,1% en AUC de glucosa en comparación con el nivel inicial, pero no se previno la hipoglucemia, tal como se define por la glucosa en plasma ≤ 50 mg/dl. Al paciente 2 se le administró una dosis de 2,5 mg a una concentración de 10 mg en 1 ml, administrada por vía subcutánea en el abdomen. Para el paciente 2, se observó un aumento del 8,8% en AUC de glucosa, pero no se previno la hipoglucemia, tal como se define por la glucosa en plasma ≤ 50 mg/dl. Al paciente 3 se le administró una dosis de 5 mg a una concentración de 10 mg en 1 ml, administrada por vía subcutánea en el brazo. Para el paciente 3, se observó un aumento del 16,3% en AUC de glucosa, pero no se previno la hipoglucemia, tal como se define por la glucosa en plasma ≤ 50 mg/dl.

Al paciente 4 se le administró una dosis de 10 mg a una concentración de 10 mg en 1 ml, administrada por vía subcutánea en el brazo. Para este paciente, no se previno la hipoglucemia, tal como se define por la glucosa en plasma ≤ 50 mg/dl.

Estos resultados farmacodinámicos intermedios demuestran un beneficio terapéutico creciente, tal como se define por el % de aumento en AUC de glucosa al aumentar las dosis administradas, experimentando uno de los dos pacientes dosificados con 5 mg un aumento mayor del 15% en AUC de glucosa en comparación con AUC de glucosa durante una prueba de tolerancia a la glucosa oral de nivel inicial. Aunque no se previno la hipoglucemia, tal como se define por la glucosa en plasma ≤ 50 mg/dl, se logró una respuesta terapéutica a la dosis, lo que ilustra que las dosis de 10-30 mg darán como resultado un control glucémico mejorado, tal como se demuestra adicionalmente en el ejemplo 3 y la figura 8.

Los parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de la administración de dosis BID de 3 días de los pacientes

1-4 se muestran en la tabla 6 a continuación. El único sujeto dosificado a 10 mg durante 3 días estaba gravemente incapacitado, experimentando episodios diarios de neuroglucopenia sintomática y requiriendo la colocación de una sonda de gastrostomía en el estómago restante para la ruta de administración de nutrientes. Estos resultados intermedios demuestran que la exposición a exendina(9-39) total aumenta al aumentar la dosis.

5 Tal como se muestra en la tabla 6, el AUC aumentó en aproximadamente 1,5-1,7 veces y la $C_{m\acute{a}x}$ aumentó en aproximadamente un 50% con un aumento de dosis de 5 mg desde 5 mg hasta 10 mg. Se espera observar grados de aumento similares para AUC y $C_{m\acute{a}x}$ con un aumento hasta una dosis de 15 mg. Para una dosis de 15 mg, se espera que el valor de $C_{m\acute{a}x}$ esté en el intervalo terapéuticamente eficaz de aproximadamente 150-200 ng/ml. Los resultados farmacocinéticos provisionales a partir de este estudio de 3 días también demuestran
10 que, en promedio, las concentraciones en plasma de AUC aumentan al aumentar los días de administración de dosis BID. Se observó un mínimo más alto en el día 3 que en el día 1, lo que sugieren que pueden requerirse varios días (por ejemplo, 3-5 días) para alcanzar el equilibrio. Por tanto, los resultados de este estudio respaldan la eficacia de la dosis de 15 mg el día 3 de tratamiento. Los resultados de este estudio también respaldan la
15 eficacia de la dosis de 10 mg en pacientes menos gravemente incapacitado y/o con un tratamiento más prolongado (por ejemplo, 5 días).

La comparación de las respuestas farmacocinéticas a la inyección en el abdomen frente al brazo de dosis de 5 mg en el paciente 1 y el paciente 3 demuestra que puede lograrse un perfil de absorción más rápida con una mayor exposición tal como se define por $C_{m\acute{a}x}$ (véase la tabla 6) mediante la administración del líquido inyectado a una zona con menos grasa subcutánea, tal como puede ser la zona subcutánea abdominal después de adelgazamiento por cirugía bariátrica. Puede lograrse un perfil de absorción más lenta con una mayor exposición tal como se define por $AUC_{\acute{u}ltimo}$ (véase la tabla 6) mediante la administración de la misma dosis a una zona con relativamente más grasa subcutánea, tal como puede tener la zona del brazo después de adelgazamiento por
20 cirugía bariátrica.

25 4.5 Ejemplo 5: dosis múltiples de exendina(9-39) inyectada por vía subcutánea revierten de manera segura y eficaz la hipoglucemia hiperinsulinémica

Este ejemplo demuestra el método de la invención en el que se usa un formato de dosis múltiples crecientes en múltiples sitios (MAD) para evaluar la eficacia, la seguridad y la farmacocinética de un ensayo de 28 días de exendina(9-39) subcutánea de liberación inmediata administrada BID en pacientes con hipoglucemia posbariátrica grave. El objetivo primario de este ensayo es demostrar la eficacia de exendina(9-39) sobre los niveles de glucosa en plasma durante una prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO) de 3 horas al final del tratamiento de 4 semanas. Este ensayo también pretende demostrar la eficacia de exendina(9-39) sobre la
30 frecuencia y la gravedad de la incidencia de hipoglucemia y los síntomas asociados en pacientes con hipoglucemia posbariátrica grave. Este ensayo también demuestra la farmacocinética y farmacodinámica de exendina(9-39) en cada nivel de dosis. Además, este ensayo demuestra el perfil de seguridad y tolerabilidad de la formulación subcutánea de liberación inmediata de exendina(9-39) en pacientes con hipoglucemia posbariátrica grave.

40 Este es un estudio de fase 2, de dos niveles de dosis de exendina(9-39), de grupos en paralelo, controlado con placebo, aleatorizado, con doble enmascaramiento, multicéntrico en pacientes con hipoglucemia posbariátrica grave. Se reclutarán aproximadamente 36 pacientes. Los pacientes elegibles tendrán un diagnóstico confirmado de hipoglucemia posbariátrica grave mediante la tríada de Whipple y una PTGO. Este estudio se divide en tres
45 fases de la siguiente manera:

Fase de selección: todos los posibles sujetos completarán una prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO), en la que si la glucosa en plasma disminuye hasta menos de o igual a 60 mg/dl y se cumplen los demás criterios de elegibilidad, se permitirá la inscripción del paciente en el estudio. En los casos de los valores de laboratorio fuera del rango, con la excepción de pruebas de laboratorio relacionadas con el síndrome de realimentación, se permite la reselección de los sujetos una vez.
50

Periodo de tratamiento aleatorizado (RT) de 4 semanas: todos los sujetos inscritos participarán en un periodo de tratamiento aleatorizado de 4 semanas en el que se aleatorizarán los sujetos en una de dos dosis de exendina(9-39) (por ejemplo, 10 mg y 20 mg, 10 mg y 15 mg o 15 mg y 20 mg) administrada BID o placebo equivalente de las 2 dosis. La razón de asignación de tratamiento a la primera dosis BID de exendina(9-39), la segunda dosis BID de exendina(9-39), la primera dosis de placebo coincidente y la segunda dosis de placebo coincidente será de 2:2:1:1. Durante el periodo de RT, los sujetos se someterán a monitorización continua de glucosa llevando
55 puestos dispositivos Dexcom en su casa.

60 Periodo de extensión abierta (OLE): todos los pacientes que completaron la semana 4 del periodo de tratamiento aleatorizado y que experimentaron un beneficio con exendina(9-39) al final del RT serán elegibles para entrar en el periodo de OLE. Durante el periodo de OLE, la dosis administrada o bien será un nivel de dosis fija óptimo seleccionado al final del periodo de tratamiento aleatorizado del estudio o bien se aumentará hasta 20 mg BID hasta que tenga lugar cualquiera de los siguientes: 12 meses completados de la extensión abierta; toxicidad inaceptable; falta de eficacia; desviación del protocolo; el paciente retiró su consentimiento; pérdida del
65

seguimiento; muerte; y el estudio se interrumpe por parte del patrocinador.

5 El criterio de valoración primario de eficacia se mide como la tasa de respuesta en el nivel de glucosa en plasma al final del RT de 4 semanas, definida como la proporción de pacientes o bien (1) sin glucosa en plasma ≤ 55 mg/dl para pacientes cuyo nivel mínimo de glucosa es ≤ 50 mg/dl en la PTGO de nivel inicial; o bien (2) sin glucosa en plasma ≤ 60 mg/dl para pacientes cuyo nivel mínimo de glucosa es $55 - \leq 60$ mg/dl en la PTGO de nivel inicial. Los criterios de valoración de eficacia secundarios se miden como la mejora de la puntuación de síntomas neuroglucopénicos durante la PTGO al final del RT (semana 4), en la que los síntomas neuroglucopénicos incluyen falta de concentración, aturdimiento, astenia, somnolencia, mareos, visión borrosa, dificultad para hablar (modificados a partir de la puntuación de hipoglucemia de Edimburgo, Hepburn 1991); la proporción de pacientes con hipoglucemia grave durante el RT de 4 semanas, en la que hipoglucemia grave se define como un acontecimiento que requiere asistencia de otra persona para administrar activamente hidratos de carbono, glucagón o tomar otras acciones correctoras con una glucemia < 50 mg/dl mediante monitorización continua de glucosa (MCG); la proporción de pacientes con cualquier acontecimiento de hipoglucemia entre la semana 2 y la semana 4, en la que hipoglucemia se define como una concentración de glucosa en plasma ≤ 55 mg/dl mediante monitorización continua de glucosa (MCG) [Hypoglycemia after Roux-En-Y gastric bypass: detection rates of continuous glucose monitoring (CGM) versus mixed meal test Kefurt 2014]; y el cambio en la calidad de vida en la semana 4 desde el nivel inicial tal como se evalúa usando las puntuaciones de dominio del formulario corto 36 (SF-36).

20 Los criterios de valoración farmacocinéticos y farmacodinámicos que van a medirse incluyen C_{\max} , T_{\max} , $T_{1/2}$, C_{\min} , AUC de exendina(9-39). Los criterios de valoración exploratorios incluirán las concentraciones de insulina (AUC, máxima, ISR, ICR), GLP-1/GIP y glucagón.

TABLA 1

Respuestas metabólicas de los sujetos a la PTGO con y sin infusión intravenosa de exendina(9-39) frente a controles no quirúrgicos	HH Placebo ^a	HH Ex(9-39) ^a	Controles no quirúrgicos ^a	Valor de P ^b	Valor de P ^c	Valor de P ^d
	(n=8)					
Glucosa en plasma en ayunas (mg*dl ⁻¹)	91,8 ± 1,2	94,7 ± 3,9	100,6 ± 4,3	0,414	0,06	0,322
Glucosa posprandial máxima (mg*dl ⁻¹)	235,4 ± 11,0	225,5 ± 15,1	152,3 ± 6,1	0,432	0,000	0,001
Tiempo hasta glucosa máxima (min)	56,3 ± 3,8	37,5 ± 4,9	45,0 ± 5,7	0,011	0,120	0,334
Glucosa posprandial de nivel mínimo (mg*dl ⁻¹)	46,1 ± 1,9	78,7 ± 5,4	74,9 ± 3,8	0,000	0,000	0,570
Tiempo hasta hipoglucemia (min)	137,5 ± 5,3	NA	NA	NA	NA	NA
Máximo delta-nivel mínimo de glucosa (mg*dl ⁻¹)	189,3 ± 10,1	146,8 ± 15,3	77,4 ± 7,6	0,012	0,000	0,001
Tasa de disminución de glucosa (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	3,1 ± 0,5	1,1 ± 0,3	0,5 ± 0,2	0,001	0,001	0,189
AUC de glucosa (0,60) (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	10402,5 ± 309,3	10905,9 ± 624,1	8120,6 ± 287,1	0,278	0,000	0,001
AUC de glucosa (60,180) (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	11318,9 ± 573,3	15397,5 ± 1180,7	13346,3 ± 504,9	0,010	0,019	0,378
AUC de glucosa (0,180) (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	21721,4 ± 701,8	26303,4 ± 1785,8	21466,9 ± 642,2	0,020	0,793	0,023
Insulina en plasma en ayunas (uU*ml ⁻¹)	4,0 ± 19,2	3,2 ± 0,8	15,0 ± 1,2	0,260	0,000	0,000
Insulina posprandial máxima (uU*ml ⁻¹)	200,3 ± 28,5	88,3 ± 23,0	86,0 ± 8,3	0,000	0,002	0,928
Tiempo hasta insulina máxima (min)	60,0 ± 5,7	48,8 ± 5,5	67,5 ± 12,4	0,285	0,590	0,187
AUC de insulina (0,60) (uU*ml ⁻¹ *min ⁻¹)	6220,3 ± 766,4	3368,9 ± 832,4	3420,0 ± 375,7	0,001	0,005	0,956
AUC de insulina (60,180) (uU*ml ⁻¹ *min ⁻¹)	4591,6 ± 876,3	2462,2 ± 524,8	6532,5 ± 607,9	0,038	0,090	0,000
AUC de insulina (0,180) (uU*ml ⁻¹ *min ⁻¹)	13605,5 ± 1819,0	5831,1 ± 1281,0	9952,5 ± 869,9	0,001	0,092	0,019
Insulina a glucosa <55 mg/dl (uU*ml ⁻¹)	17,5 ± 4,7	NA	NA	NA	NA	NA
Índice insulínico (0,30)	1,2 ± 0,2	0,7 ± 0,2	1,2 ± 0,4	0,001	0,927	0,286
Índice insulínico (0,60)	1,4 ± 0,2	0,6 ± 0,1	1,9 ± 0,4	0,000	0,239	0,006

^a Los datos se presentan como la media ± EEM

^{b-d} Valor de P mediante prueba de la t de Student bilateral

^b Valor de P de HH Placebo frente a HH Ex(9-39)

^c Valor de P de HH Placebo frente a controles no quirúrgicos

^d Valor de P de HH Ex(9-39) frente a controles no quirúrgicos

TABLA 2

Tabla 2. Respuestas de incretina de los sujetos a la PTGO con y sin infusión intravenosa de Exendina(9-39)					
	HH Placebo ^a		HH Ex(9-39) ^a		Valor de P ^b
	(n=8)				
GLP-1 en ayunas (pmol*l ⁻¹)	9,0	± 0,4	9,4	± 1,2	0,191
GLP-1 máximo (pmol*l ⁻¹)	86,0	± 6,1	82,3	± 13,9	0,857
Tiempo hasta GLP-1 máximo (min)	42,9	± 6,1	38,6	± 5,5	0,604
AUC de GLP-1 (0,60) (pmol*l ⁻¹ *min ⁻¹)	3270,0	± 214,1	3267,9	± 606,8	0,998
AUC de GLP-1 (60,180) (pmol*l ⁻¹ *min ⁻¹)	3135,7	± 265,7	3621,4	± 416,0	0,429
AUC de GLP-1 (0,180) (pmol*l ⁻¹ *min ⁻¹)	6405,7	± 423,0	6889,3	± 941,2	0,700
Razón de insulina máxima con respecto a GLP-1 máximo	2,6	± 0,1	1,3	± 0,4	0,059
GIP en ayunas (pmol*l ⁻¹ *min ⁻¹)	14,4	± 1,4	14,0	± 1,5	0,824
GIP máximo (pmol*l ⁻¹ *min ⁻¹)	93,1	± 12,8	86,6	± 12,0	0,005
Tiempo hasta GIP máximo (min)	42,9	± 6,0	34,3	± 4,3	0,356
AUC de GIP (0,60) (pmol*l ⁻¹ *min ⁻¹)	3831,4	± 495,9	3267,9	± 606,8	0,127
AUC de GIP (60,180) (pmol*l ⁻¹ *min ⁻¹)	3722,1	± 168,9	3165,0	± 396,9	0,084
AUC de GIP (0,180) (pmol*l ⁻¹ *min ⁻¹)	7553,6	± 617,9	6420,0	± 941,2	0,003
Razón de insulina máxima con respecto a GIP máximo	2,4	0,4	1,3	0,4	0,000
Glucagón en ayunas (pmol*l ⁻¹)	40,5	± 2,8	41,9	± 2,9	0,567
Glucagón máximo (pmol*l ⁻¹)	82,8	± 6,7	92,3	± 6,4	0,079
Tiempo hasta glucagón máximo (min)	60,0	± 12,7	45,0	± 11,3	0,470
AUC de glucagón (0,60) (pmol*l ⁻¹ *min ⁻¹)	3796,6	± 306,2	4430,5	± 285,1	0,033
AUC de glucagón (60,180) (pmol*l ⁻¹ *min ⁻¹)	7999,8	± 912,2	8017,5	± 696,3	0,981
AUC de glucagón (0,180) (pmol*l ⁻¹ *min ⁻¹)	11584,4	± 1252,9	12019,3	± 941,9	0,981

TABLA 3

	Placebo ^a	Ex(9-39) s.c. ^a	Ex(9-39) i.v. ^a	Valor de P ^b	Valor de P ^c
<i>Respuesta metabólica de los sujetos</i>	(n=8)	(n=8)	(n=8)		
Glucosa en plasma en ayunas (mg*dl ⁻¹)	91,6 ± 1,7	94,5 ± 1,7	94,7 ± 3,9	0,125	0,966
Glucosa posprandial máxima (mg*dl ⁻¹)	229,3 ± 13,2	252,3 ± 23,7	225,5 ± 15,1	0,258	0,358
Tiempo hasta glucosa máxima (min)	54,5 ± 3,7	52,5 ± 4,9	37,5 ± 4,9	0,351	0,049
Glucosa posprandial de nivel mínimo (mg*dl ⁻¹)	47,7 ± 1,6	77,9 ± 4,1	78,7 ± 5,4	<.001	0,906
Tiempo hasta hipoglucemia (min)	135,5 ± 4,9	NA	NA	NA	NA
Máximo delta-nivel mínimo de glucosa (mg*dl ⁻¹)	182,0 ± 11,0	174,4 ± 24,2	146,8 ± 15,3	0,588	0,351
Tasa de disminución de glucosa (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	2,9 ± 0,4	2,4 ± 0,7	1,1 ± 0,3	0,402	0,117
AUC de glucosa (0,60) (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	10171,4 ± 334,6	11135,6 ± 704,4	10905,9 ± 624,1	0,140	0,811
AUC de glucosa (0,180) (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	21106 ± 1001,6	27471,6 ± 1963,0	26303,4 ± 1785,8	0,007	0,667

<i>Respuesta sintomática de los sujetos</i>									
Puntuación global de síntomas ^a	de	26	± 3,3	14,6	± 4,4	4,5	± 2,2	0,006	0,057
Puntuación de aumento de síntomas+	de	11	± 2,4	12,3	± 3,7	4,3	± 2,2	0,794	0,087
Puntuación de disminución de síntomas*	de	22	± 3,5	4,0	± 1,5	1,1	± 0,4	0,001	0,091

^a Los datos se presentan como la media ± EEM
^{b-c} Valor de *P* mediante prueba de la *t* de Student para datos emparejados bilateral
^b Valor de *P* de Ex(9-39) s.c. frente a placebo
^c Valor de *P* de Ex(9-39) s.c. frente a Ex(9-39) i.v.

TABLA 4

	37500 pmol/kg	75000 pmol/kg	125000 pmol/kg
	n=1	n=2	n=1
<i>Características del líquido inyectado</i>			
Aumento en veces de la dosis en relación con 7.500 pmol/kg	5x	10x	15x
Concentración (mg/ml)	15,714	23,57	41,43
Dosis total administrada (mg)	11	17	29
Volumen por inyección (ml)	0,7	0,7	0,7
Número de inyecciones	1	1	1
<i>Respuesta farmacodinámica de los sujetos</i>			
Glucosa en plasma en ayunas (mg*dl ⁻¹)	94	95,8	103,5
Glucosa posprandial máxima (mg*dl ⁻¹)	244	226,8	311,0
Tiempo hasta glucosa máxima (min)	60	60	60
Glucosa posprandial de nivel mínimo (mg*dl ⁻¹)	88	71,3	58,0
Máximo delta-nivel mínimo de glucosa (mg*dl ⁻¹)	156	155,5	253,0
Tasa de disminución de glucosa (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	1	2,2	6,7
AUC de glucosa (0,60) (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	10815	9694	12713
AUC de glucosa (0,180) (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	28482	25151	25718
<i>Respuesta farmacocinética de los sujetos</i>			
C _{máx} (ng/ml)	114	73,35	56
DN C _{máx} (ng/ml/mg)	10,36	4,45	1,93
T _{máx} (h)	3,25	6,25	5,00
AUC _{INF} [h*ng/ml]	1097	1210	728
DN_AUC _{INF} [h*ng/ml/mg]	69	63	24
AUC _{último} (h*ng/ml)	1084	696	720
T ^{1/2} (h)	3,60	9,14	3,64
MRT _{último} [h]	6,16	5,74	6,62
MRT _{INF} [h]	6,45	14,66	6,87

TABLA 5

	37500 pmol/kg	75000 pmol/kg	112500 pmol/kg
	n=1	n=1	n=2
<i>Características del líquido inyectado</i>			

ES 2 887 723 T3

Aumento en veces de la dosis en relación con 7.500 pmol/kg			
Concentración (mg/ml)	15,714	14,71	13,48
Dosis total administrada (mg)	11	21	29
Volumen por inyección (ml)	0,7	0,7	0,7
Número de inyecciones	1	2	3
<i>Respuesta farmacodinámica de los sujetos</i>			
Glucosa en plasma en ayunas (mg*dl ⁻¹)	94	90	90,0
Glucosa posprandial máxima (mg*dl ⁻¹)	244	187,0	228,0
Tiempo hasta glucosa máxima (min)	60	30	45
Glucosa posprandial de nivel mínimo (mg*dl ⁻¹)	88	75,5	85,0
Máximo delta-nivel mínimo de glucosa (mg*dl ⁻¹)	156	111,5	143,0
Tasa de disminución de glucosa (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	1	0,6	1,5
AUC de glucosa (0,60) (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	10815	9540	11063
AUC de glucosa (0,180) (mg*dl ⁻¹ *min ⁻¹)	28482	21023	27274
<i>Respuesta farmacocinética de los sujetos</i>			
C _{máx} (ng/ml)	114	158	229
DN C _{máx} (ng/ml/mg)	10,36	7,52	7,9
T _{máx} (h)	3,25	4,50	4,50
AUC _{INF} [h*ng/ml]	1097	1516	1885
DN_AUC _{INF} [h*ng/ml/mg]	69	101	67
AUC _{último} (h*ng/ml)	1084	900	1055
T ^{1/2} (h)	3,60	4,59	4,87
MRT _{último} [h]	6,16	4,39	4,69
MRT _{INF} [h]	6,45	8,55	9,24

TABLA 6

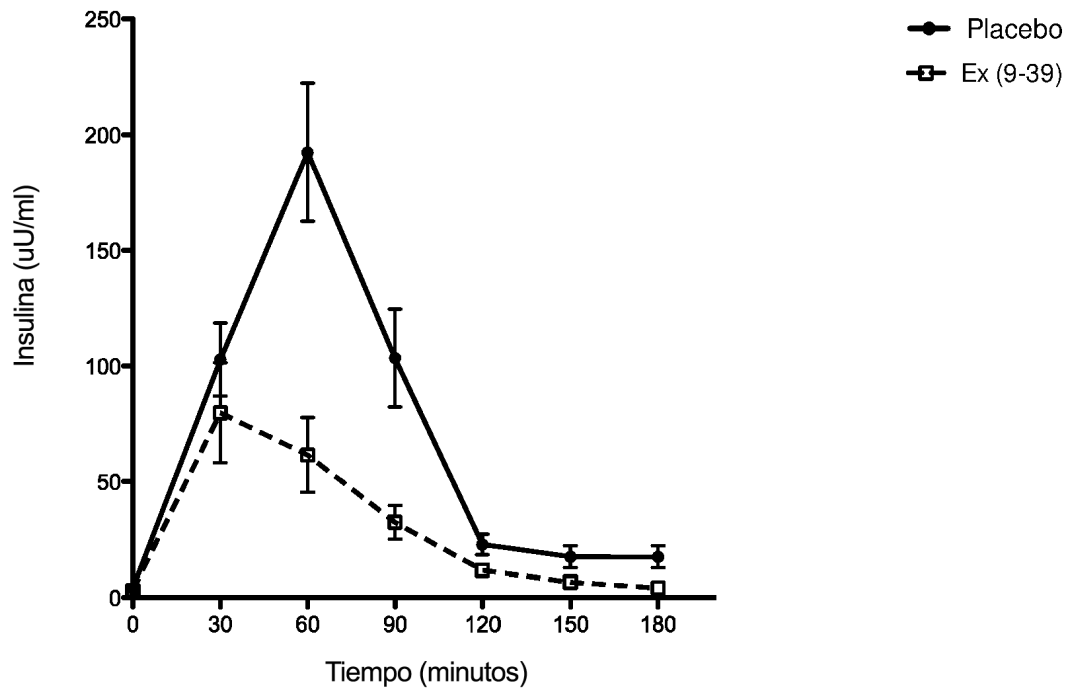
<i>Dosis</i>	<u>2.5 mg</u>	<u>5 mg</u>	<u>5 mg</u>	<u>10 mg</u>
Número de sujetos dosificados	n=1	n=1	n=1	n=1
<i>Características del líquido inyectado</i>				
Dosis (mg)	2,5	5	5	10
Concentración (mg/ml)	10 mg/ml	10 mg/ml	10 mg/ml	10 mg/ml
Volumen por inyección (ml)	0,25 ml	0,5 ml	0,5 ml	1 ml
Número de inyecciones	1	1	1	1
Sitio de administración	abdomen	abdomen	brazo	brazo
<i>Respuesta farmacodinámica de los sujetos</i>				
% de aumento de AUC de glucosa (tratamiento-nivel inicial)	8,8	13,1	16,3	N/A
Nivel mínimo de glucosa en plasma ≤50 mg/dl (Sí/No)	Sí	Sí	Sí	Sí
<i>Respuesta farmacocinética de los sujetos</i>				
C _{máx} del día 3 (ng/ml)	53,4	77,2	65	128
DN C _{máx} (ng/ml/mg)	21,36	15,44	13	12,8
T _{máx} del día 3 (h)	4	5	5	5
AUC _{último} (h*ng/ml)	379,2	409,1	684,3	969
T _{1/2} (h)	4,3	4,4	4,6	6,5

REIVINDICACIONES

- 5 1. Exendina(9-39) para su uso en el tratamiento o la prevención de hipoglucemia hiperinsulinémica en un paciente, que comprende la inyección subcutánea dos veces al día (BID) de una composición que comprende 10-30 mg de exendina(9-39).
2. Exendina(9-39) para su uso según la reivindicación 1, en la que la composición comprende 30 mg de exendina(9-39).
- 10 3. Exendina(9-39) para su uso según la reivindicación 1 ó 2, en la que el volumen de inyección está en el intervalo de 0,25 ml a 2 ml.
- 15 4. Exendina(9-39) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende dos administraciones al día, en la que una administración es al menos 8 horas después de la otra administración, opcionalmente desde 9 hasta 15 horas después de la otra administración.
- 20 5. Exendina(9-39) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la administración comprende una primera administración diaria por la mañana y una segunda administración diaria por la noche, en la que la segunda administración diaria es al menos 8 horas después de la primera administración diaria.
- 25 6. Exendina(9-39) para su uso según la reivindicación 5, en la que la primera administración diaria es al menos 1 hora antes de la comida de la mañana, la segunda administración diaria es al menos 8 horas después de la primera administración diaria, opcionalmente desde 9 hasta 15 horas después de la primera administración diaria, y opcionalmente la segunda administración diaria es de 60 a 90 minutos antes de la comida de la noche.
- 30 7. Exendina(9-39) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el paciente se ha sometido previamente a cirugía bariátrica o cirugía gastrointestinal.
- 35 8. Exendina(9-39) para su uso según la reivindicación 1, en la que la cirugía bariátrica se selecciona del grupo que consiste en cirugía de derivación gástrica en Y de Roux, gastrectomía vertical en manga, colocación de un dispositivo de endomanga, reparación de la superficie de la mucosa duodenal, derivación parcial del duodeno, bloqueo del nervio vago y piloroplastia, y en la que la cirugía gastrointestinal se selecciona del grupo que consiste en gastrectomía, funduplicatura de Nissen y esofagectomía.
- 40 9. Exendina(9-39) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la dosis terapéuticamente eficaz es adecuada para inyección en el muslo, el abdomen, la zona superior del brazo o la zona superior de la nalga.
- 45 10. Exendina(9-39) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la exendina(9-39) se formula como una disolución isotónica conservada estéril en una ampolla o un vial de vidrio de dosis unitaria o múltiple para su administración con el uso de una jeringa.
- 50 11. Exendina(9-39) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la composición se administra al paciente durante al menos 30 días.
- 55 12. Exendina(9-39) para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que la composición se formula con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable, opcionalmente agua, solución salina o una solución amortiguadora isotónica, y opcionalmente un conservante y/o agente regulador del pH.
- 60 13. Jeringa para inyección subcutánea que comprende una única dosis de 30 mg de exendina(9-39) en una disolución isotónica conservada estéril, en la que la jeringa es para su uso en el tratamiento y la prevención de hipoglucemia hiperinsulinémica y síntomas y desenlaces agudos y crónicos asociados en un paciente, opcionalmente un paciente que se ha sometido previamente a cirugía bariátrica, opcionalmente a una cirugía de derivación gástrica en Y de Roux.
- 65 14. Dispositivo de pluma inyectable para inyección subcutánea preprogramado para administrar una cantidad de dosificación fija de 30 mg de exendina(9-39), en el que el dispositivo de pluma inyectable es para su uso en el tratamiento y la prevención de hipoglucemia hiperinsulinémica y síntomas y desenlaces agudos y crónicos asociados en un paciente, opcionalmente en un paciente que se ha sometido previamente a cirugía bariátrica, opcionalmente a una cirugía de derivación gástrica en Y de Roux.
15. Kit que comprende una pluralidad de dispositivos de pluma inyectables individuales según la reivindicación 14, para su uso en el tratamiento y la prevención de hipoglucemia hiperinsulinémica y síntomas y desenlaces agudos y crónicos asociados en un paciente, opcionalmente en un paciente que se ha sometido previamente a cirugía bariátrica.

FIG. 1

A



B

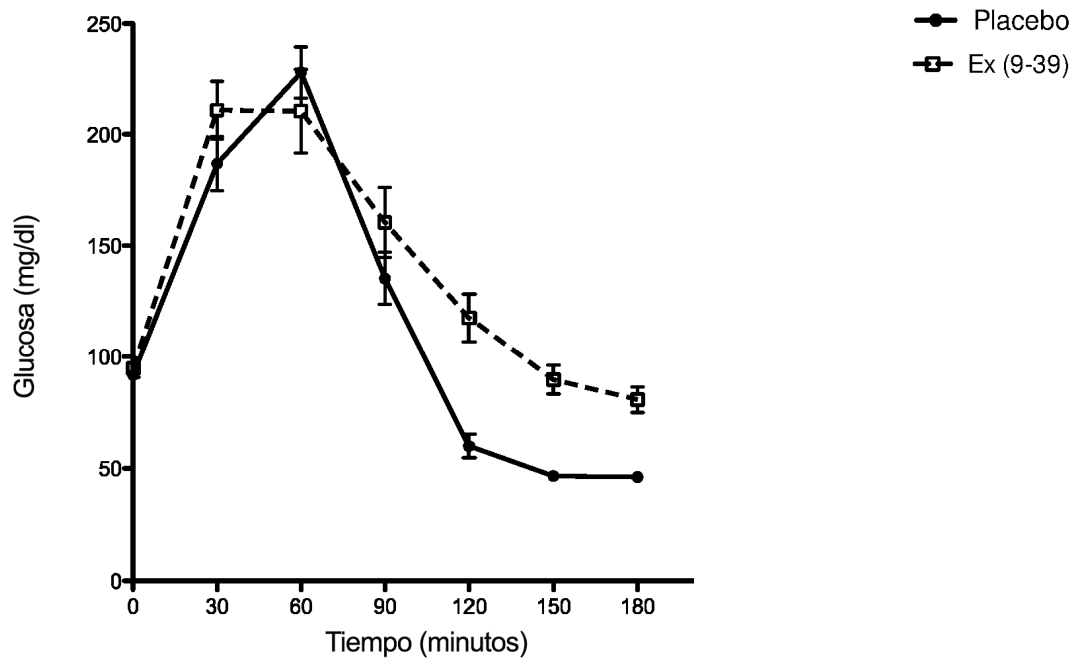


FIG. 2A-B

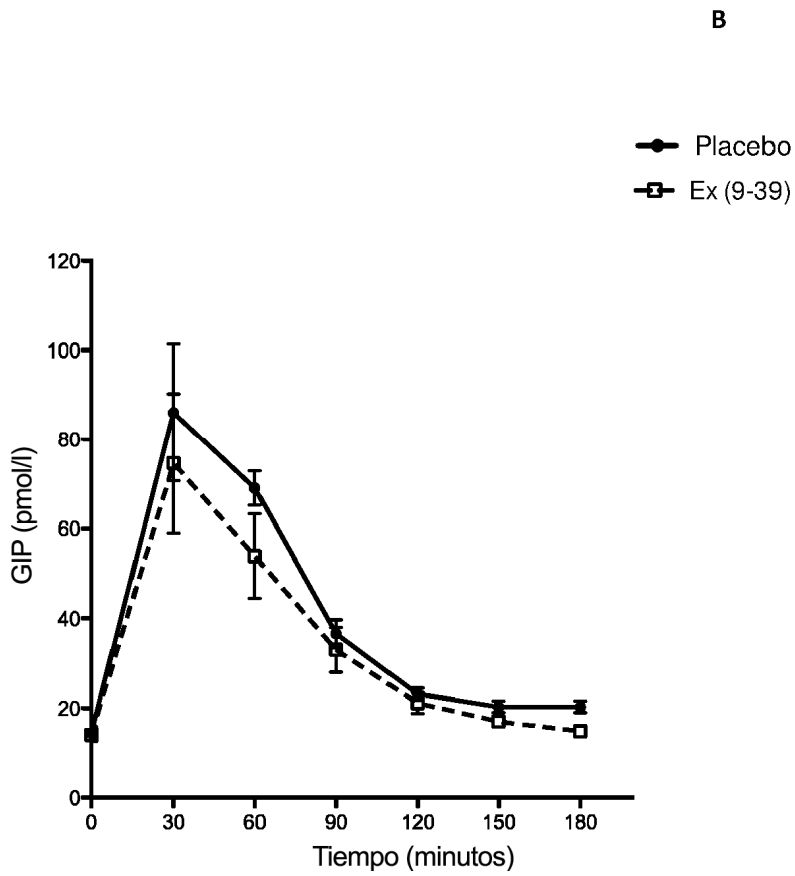
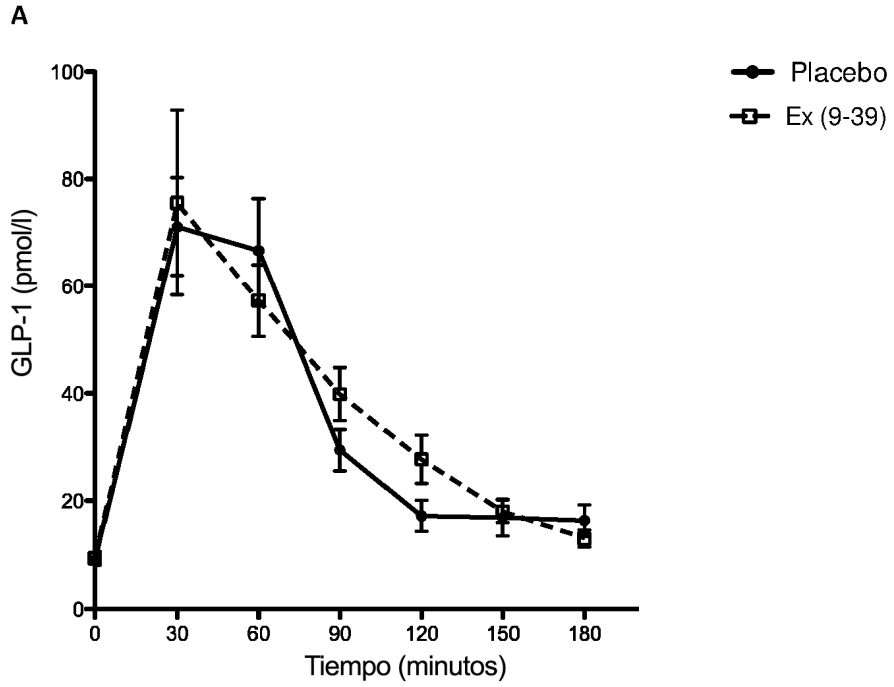


FIG. 2C

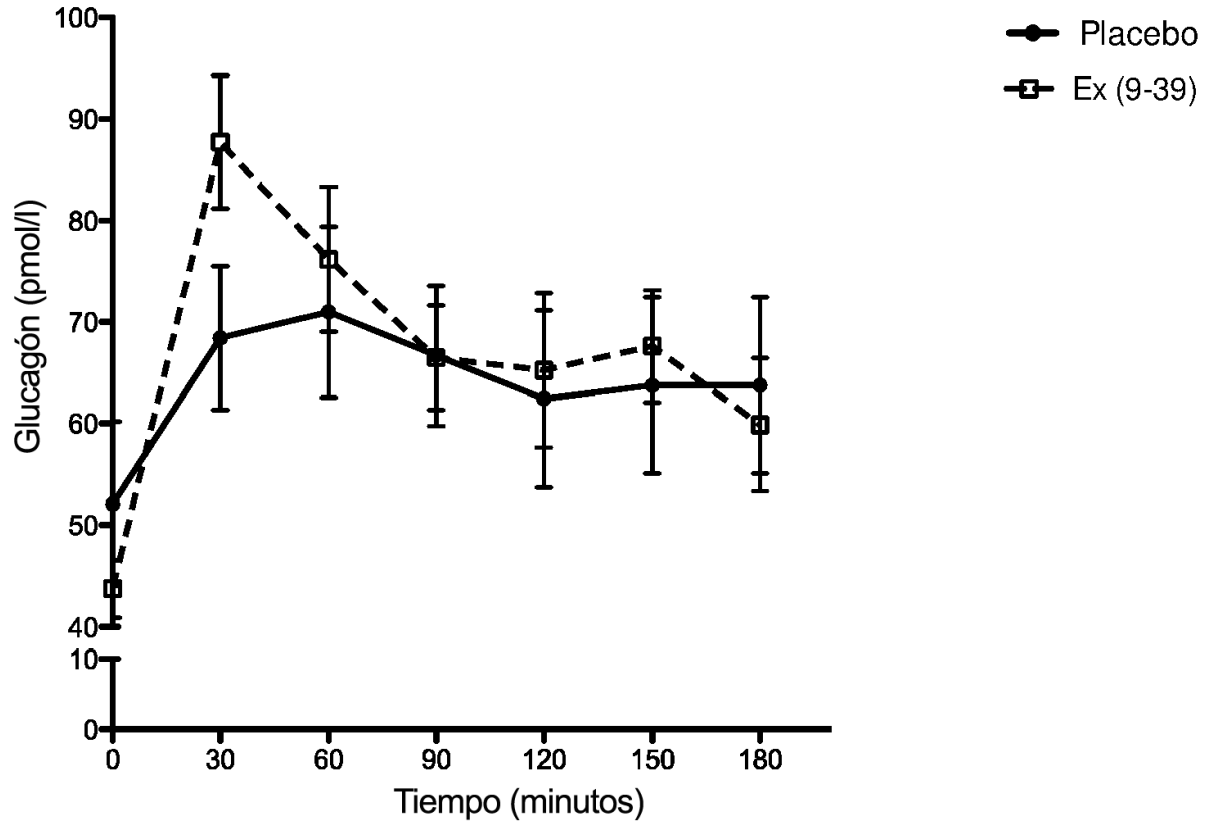


FIG. 3

PLACEBO				EXENDINA 9-39			
Sujeto	Puntuación global de síntomas	Puntuación de aumento de glucosa*	Puntuación de disminución de glucosa**	Sujeto	Puntuación global de síntomas	Puntuación de aumento de glucosa*	Puntuación de disminución de glucosa**
1	33	25	22	1	0	0	0
2	41	8	41	2	4	4	0
3	29	10	21	3	0	0	0
4	31	12	24	4	3	3	1
5	20	9	20	5	6	6	2
6	17	3	17	6	19	19	2
7	10	4	8	7	14	14	4
8	36	15	36	8	2	2	2
Promedio	27	11	24	Promedio	6	6	1

FIG. 4A-C

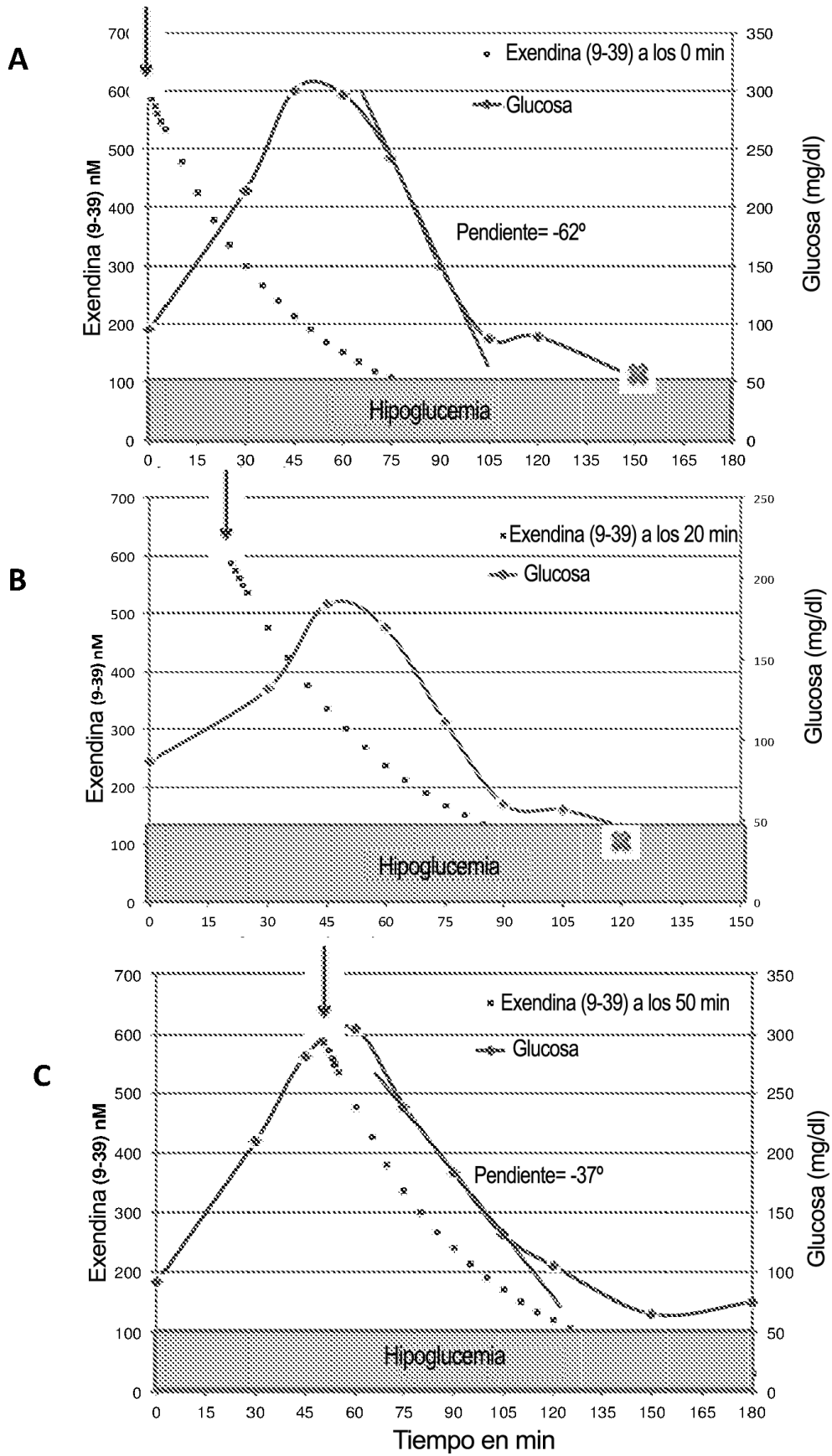


FIG. 4D

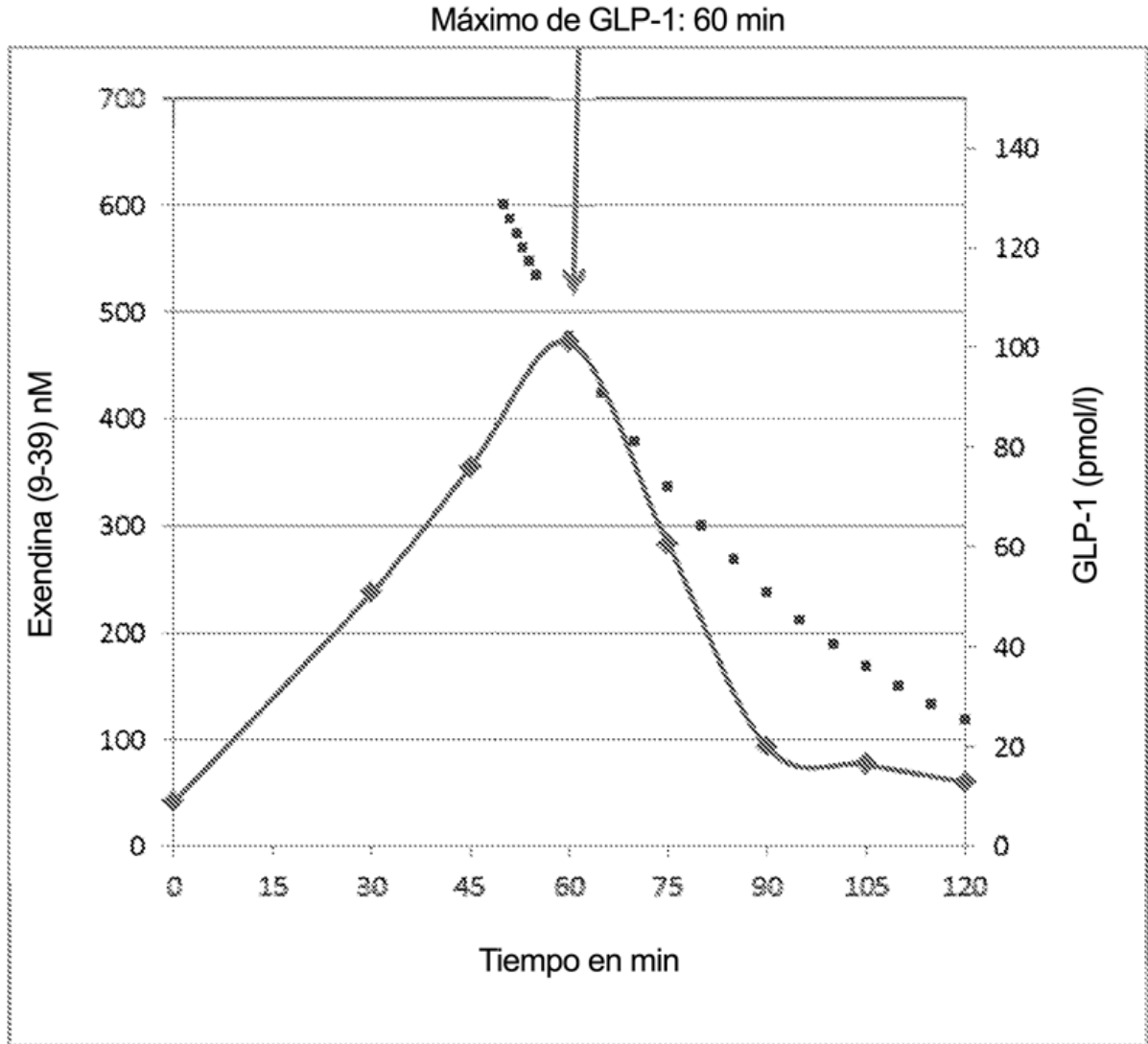


FIG. 5A

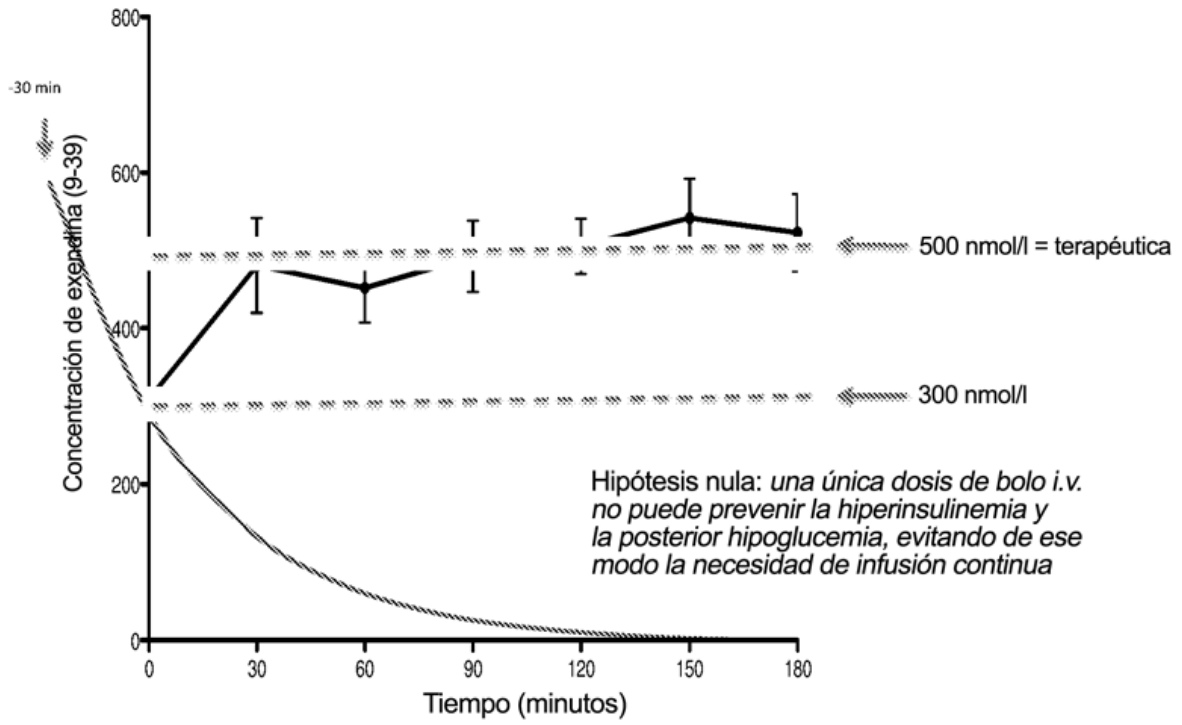


FIG. 5B

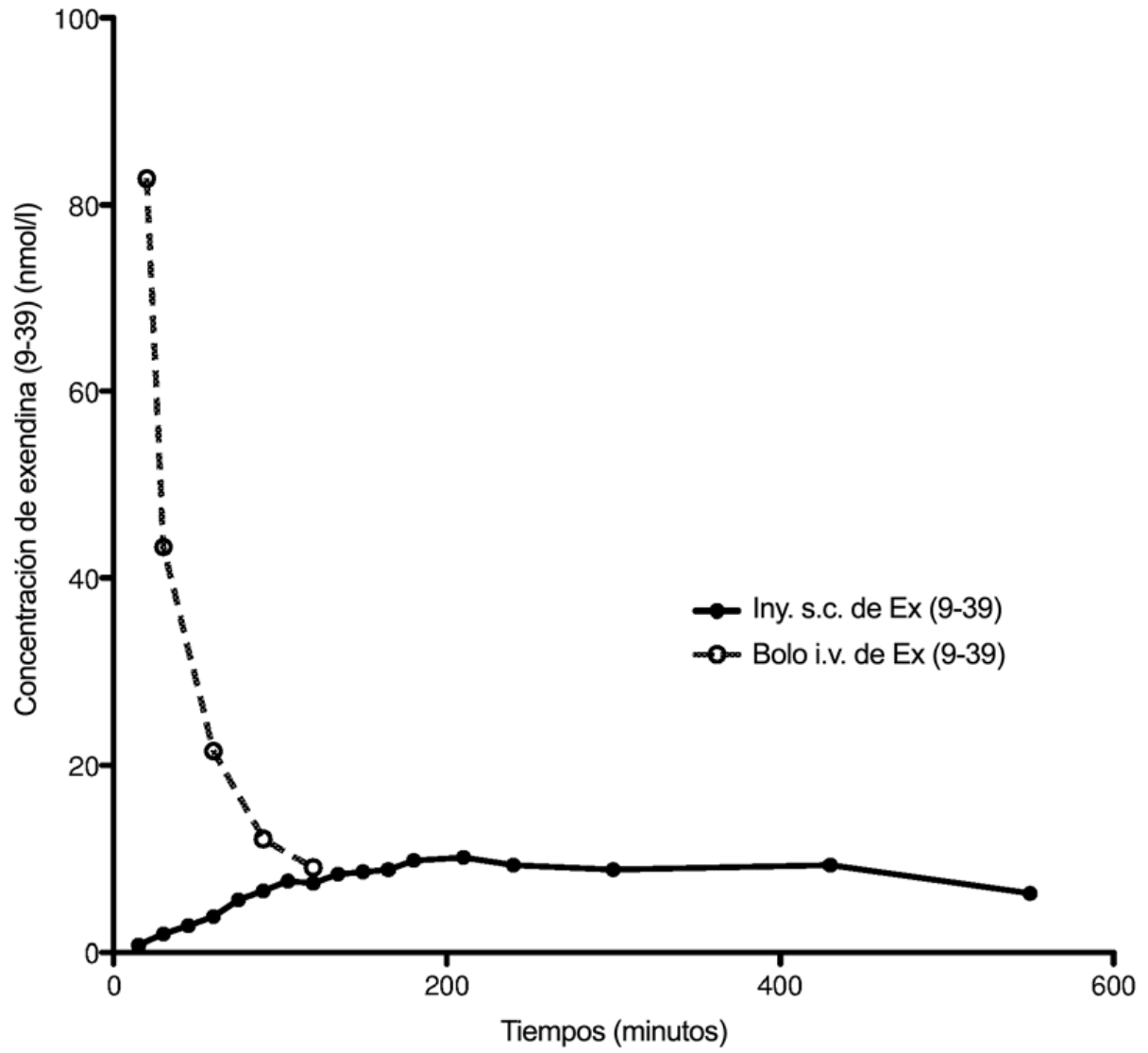


FIG. 6

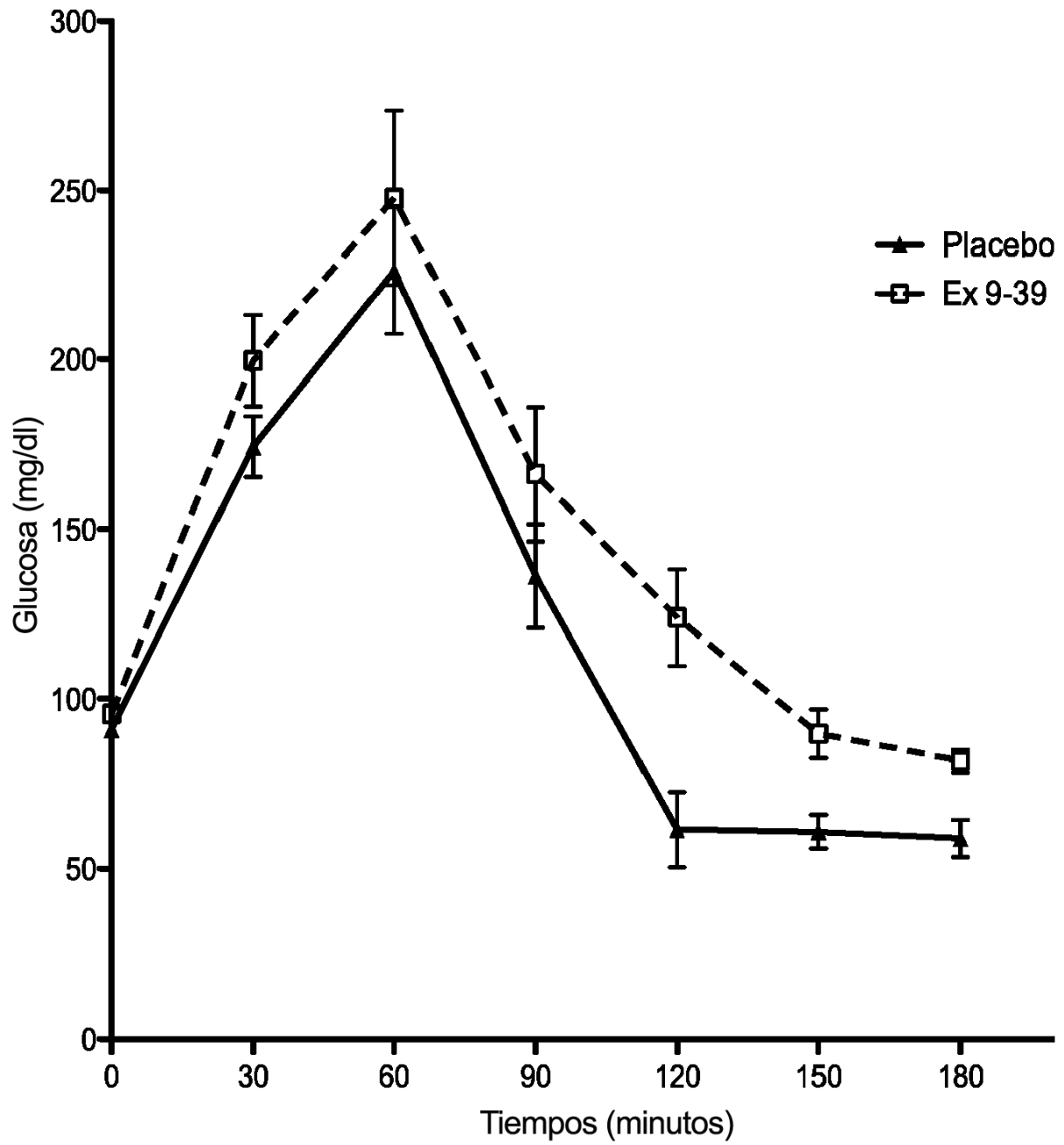


FIG. 7A

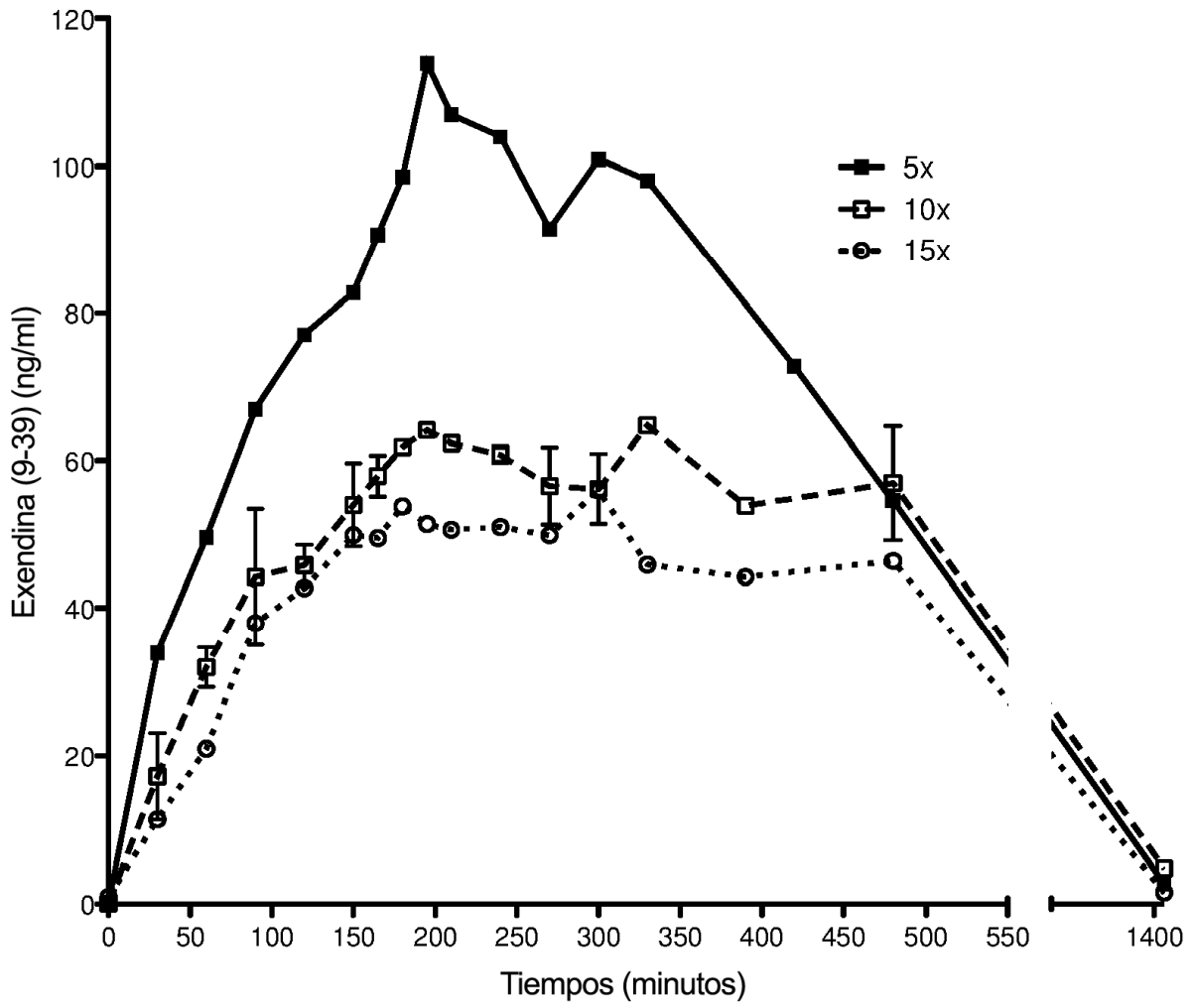


FIG. 7B

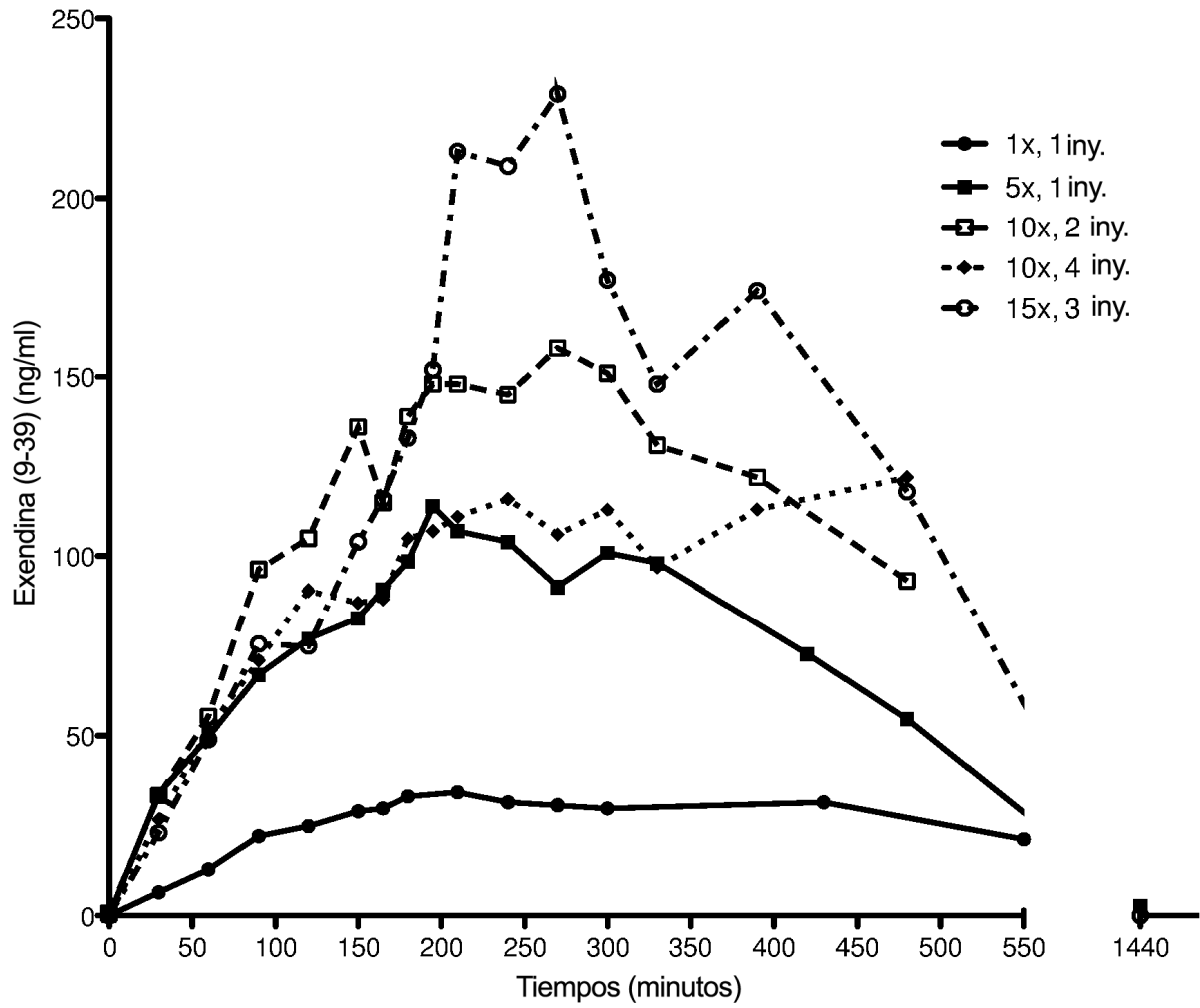


FIG. 8

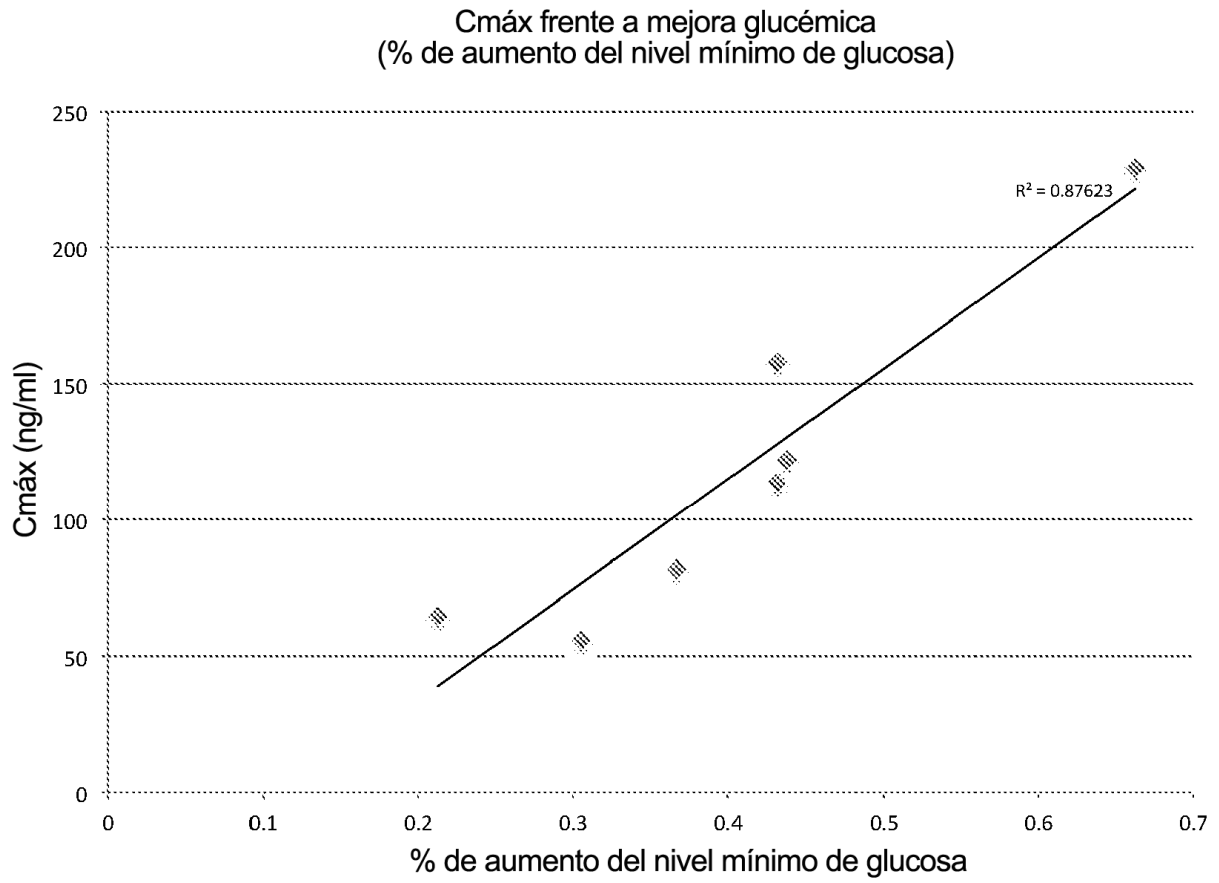
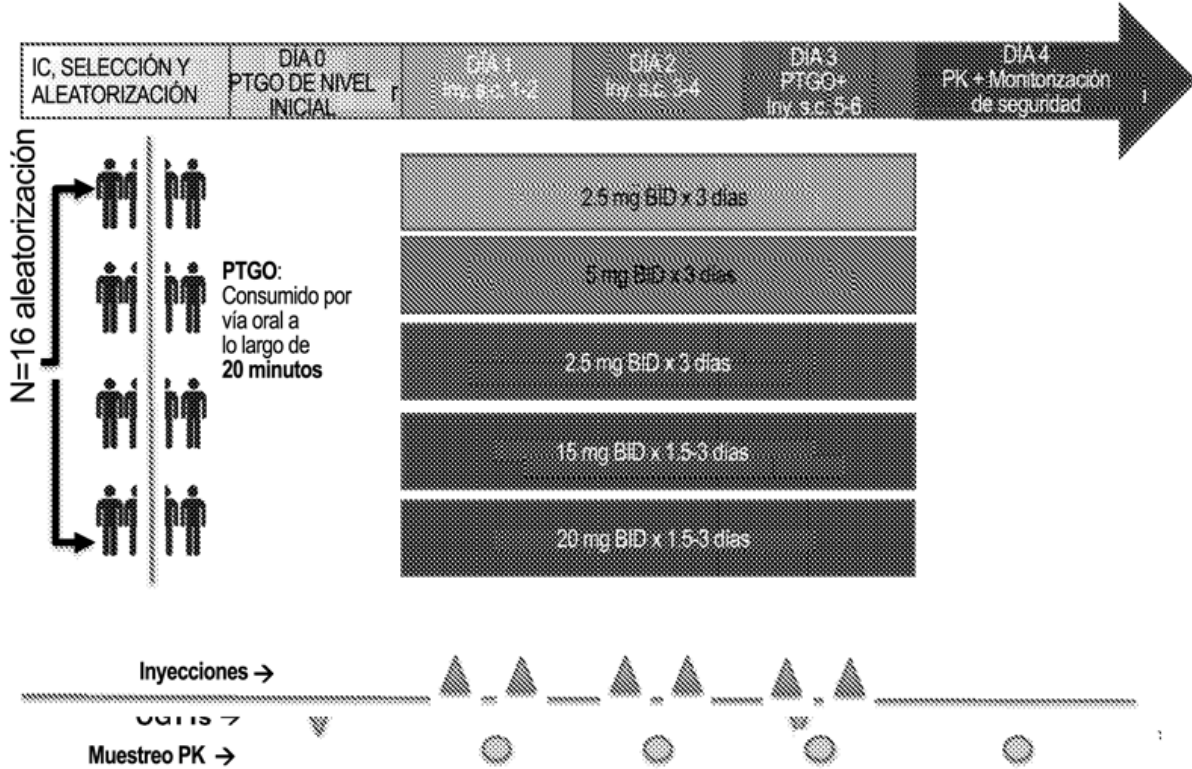


FIG. 9

Diseño del estudio



Diseño, doble enmascaramiento, de dosis aleatoria
 Entorno: Unidad de Investigación Clínica y Traslacional (CTRU) de Stanford

FIG. 10

