



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 316 757**

51 Int. Cl.:
A61K 38/22 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03729360 .2**
96 Fecha de presentación : **08.01.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1474164**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.11.2004**

54 Título: **Uso de agonistas de amilina para modular triglicéridos.**

30 Prioridad: **08.01.2002 US 347128 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2009

73 Titular/es: **AMYLIN PHARMACEUTICALS, Inc.**
9360 Towne Centre Drive
San Diego, California 92121, US

72 Inventor/es: **Kolterman, Orville, G.;**
Weyer, Christian;
Maggs, David, G. y
Fineman, Mark

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 316 757 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

Uso de agonistas de amilina para modular triglicéridos.

5 **Campo de la invención**

El campo de la invención es la modulación de los niveles de lípidos circulantes, especialmente los niveles de triglicérido.

10 **Antecedentes**

Amilina es una hormona polipeptídica de 37 aminoácidos normalmente secretada junto con la insulina por las células pancreáticas beta en respuesta a la ingesta de nutrientes (véase, por ejemplo, Koda y col., *Lancet* 339:1179-1180, 1992). Los estudios preclínicos indican que amilina actúa como una hormona neuroendocrina que complementa la acción de la insulina en el control de la glucosa postprandial mediante varios efectos que en conjunto reducen la entrada de glucosa en la circulación a una tasa que se corresponde mejor con la tasa de salida de glucosa mediada por insulina (Weyer y col., *Curr Pharm Des* 7:1353-73, 2001; Young, *Curr Opin Endocrinol Diab* 4: 282-290, 1997). Estos efectos incluyen una ralentización de la velocidad a la que los nutrientes pasan del estómago al intestino delgado para su absorción (Young y col., *Diabetologia* 38:642-648, 1995), y una supresión de la secreción de glucagón estimulada por nutrientes (Gedulin y col., *Metabolism* 46:67-70, 1997). Pramlintida (^{25,28,29} Pro-h-amilina) es un análogo sintético, soluble, no agregante de la amilina humana en desarrollo como complemento de la terapia con insulina en la diabetes de ambos tipo 1 y tipo 2 (Weyer y col., *Curr Pharm Des* 7:1353-73, 2001; Buse y col *Clin Diabetes* 20:137-144, 2002; Edelman y Weyer, *Diabetes Technology and Therapeutics* 4:175-189, 2002). Los estudios clínicos a corto plazo en pacientes con diabetes tipo 1 han demostrado que la sustitución con amilina en las comidas con inyecciones subcutáneas (s. c.) de pramlintida, además de insulina en las comidas, ralentiza la velocidad del vaciado gástrico (Kong y col., *Diabetologia* 41:577-583, 1998), suprime la secreción de glucagón en las comidas (Nyholm y col., *Metabolism* 48:935-941, 1999; Fineman y col., *Metabolism*, 51:636-641, 2002) y en consecuencia, mejora las excursiones de glucosa postprandial (Nyholm y col., *Metabolism* 48:935-941, 1999; Thompson y col., *Diabetes* 46:632-636, 1997).

Se ha demostrado que las anomalías en lípidos circulantes están asociadas con un mayor riesgo de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular. Se sabe que los diabéticos y otros grupos, como los individuos obesos, tienen una mayor incidencia de anomalías en lípidos y un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad cardiovascular. Estos riesgos pueden, en parte, estar relacionados con las anomalías en los lípidos aterogénicos, tales como un perfil lipoproteínico anormal o concentraciones aumentadas de triglicéridos en plasma (véase, por ejemplo, Georgopoulos *Clin. Cardiol.*, 22:(Supl. II), II-28-II-33 (1999); Vergès *Diabetes & Metabolism* 25(Supl. 3):32-40 (1999), ambos incorporados por referencia en el presente documento). Las terapias actuales existentes hacen diana principalmente en la hiperlipidemia en ayunas, pero hasta la fecha nada existe cuya diana sea la hiperlipidemia postprandial.

40 **Breve descripción de las figuras**

La Figura 1 muestra que el agonista de amilina pramlintida reduce eficazmente la glucosa postprandial y las excursiones de triglicérido tras un estímulo con alimento mixto estandarizado.

La Figura 2 muestra el promedio del aumento de concentración de triglicérido postprandial en pacientes con diabetes Tipo 1 que usan insulina Lispro que recibieron placebo (plac) o pramlintida (pram) en los puntos temporales indicados con respecto a un alimento estandarizado.

La Figura 3 muestra el promedio del aumento de concentración de triglicérido postprandial en pacientes Tipo 1 que usan insulina regular que recibieron placebo (plac) y pramlintida (pram) en varios puntos temporales con respecto a un alimento estandarizado.

La Figura 4 muestra el promedio del aumento de concentración de triglicérido postprandial en pacientes con diabetes Tipo 2 con diabetes tipo II que usan insulina Lispro que recibieron placebo (plac) y pramlintida (pram) en diferentes puntos temporales con respecto a un alimento estandarizado.

Resumen

La presente invención proporciona el uso de una composición que comprende una amilina o agonista de amilina para la fabricación de un medicamento para tratar la dislipidemia en un paciente, en el que el medicamento reduce las excursiones de triglicérido postprandial en el que el agonista de amilina es un análogo de amilina o un derivado de amilina.

La presente invención proporciona también el uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento reduce los niveles de lípidos circulantes.

Descripción detallada

Aunque amilina y sus análogos se han caracterizado bien con respecto a los efectos regulatorios sobre los niveles de glucosa en sangre y diversos otros usos, se describe en el presente documento que se puede usar la administración de análogos de amilina para regular de manera beneficiosa las concentraciones de triglicérido en plasma. La reducción de triglicéridos circulantes puede ser beneficiosa para una variedad de pacientes en ambientes clínicos o veterinarios. En particular, es bien conocido que niveles elevados de triglicérido postprandial son un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular. Los usos descritos en el presente documento para reducir dichos niveles son así de importancia clínica considerable para mejorar los factores de riesgo cardiovascular.

Por ejemplo, en pacientes humanos sanos, los niveles de triglicérido postprandial no exceden generalmente de aproximadamente 250 mg/dl. Sin embargo, en algunas enfermedades o trastornos, los niveles en ayunas y/o postprandiales pueden exceder ese valor en gran medida. Esto en parte se puede atribuir al hecho de que la capacidad de aclarar lipoproteínas ricas en triglicérido (y los triglicéridos circulantes) de la circulación es limitada en seres humanos, y está especialmente desequilibrada en personas con obesidad, resistencia a la insulina y/o diabetes, particularmente diabetes de tipo II. La hipertrigliceridemia es una anomalía clínicamente importante, ya que está asociada con un aumento en el riesgo de enfermedad cardiovascular y patologías relacionadas. Por ejemplo, los pacientes con diabetes mellitus tipo II tienen con frecuencia elevados los triglicéridos en ayunas, a menudo del orden de 250-500 mg/dl. Tras una comida, los niveles de triglicérido circulante en estos pacientes pueden aumentar por encima de 1000 mg/dl, muy por encima del intervalo normal. Estos triglicéridos elevados son un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular aterosclerótica, por ejemplo, y algunos estudios indican que los triglicéridos de los pacientes de tipo II son más propensos a adherirse a las paredes vasculares. Los procedimientos de la presente invención pueden por tanto usarse para tratar pacientes tanto con niveles de triglicérido en ayunas elevados, niveles de triglicérido postprandial elevados, o ambos.

Se ha descubierto que, además de los efectos moduladores sobre la glucosa, amilina y los agonistas de amilina son efectivos aguda o crónicamente para mantener o reducir los niveles de lípido en ayunas, y para reducir excursiones de lípidos postprandiales (particularmente triglicérido). Este efecto es beneficioso para reducir el riesgo cardiaco y aterosclerótico en pacientes en riesgo más elevado, por ejemplo, los que estén genéticamente predispuestos, obesos, diabéticos, etc. Según se usa en el presente documento, "agonistas de amilina" incluye amilina, análogos de amilina (por ejemplo, que tenga una o más adiciones o deleciones, y/o sustituciones de aminoácidos con aminoácidos naturales o no naturales tales como D-aminoácidos o peptidomiméticos), y derivados de amilina (incluyendo pero sin limitarse a modificaciones o adiciones químicas, acilación, PEGilación, etc.) En una forma de realización preferida, un agonista de amilina es pramlintida. Se describen también procedimientos para mejorar el perfil lipídico en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de una amilina o agonista de amilina. Según se usa en el presente documento, "perfil lipídico" significa el equilibrio, proporción o concentración real de lípidos circulantes, incluyendo niveles de triglicérido, HDL, LDL, colesterol, etc. La invención es útil para disminuir los niveles de triglicérido en un paciente comprendiendo administrar una cantidad eficaz de una amilina o agonista de amilina. Los niveles de lípidos totales o de triglicérido se pueden reducir con este procedimiento, por ejemplo, los niveles en ayunas, los niveles de picos postprandiales, y las excursiones en el nivel de lípido/triglicérido postprandial (por ejemplo, según se mide mediante el área bajo la curva (AUC) de aumento de triglicérido postprandial comparado con el aumento en el estado tratado con un no-agonista de amilina). Las medidas clínicamente relevantes, tal como los niveles de lípido en ayunas, (incluyendo triglicérido, colesterol, HDL, y LDL, etc.) y los niveles de lípido postprandial (por ejemplo, triglicérido) se reducen también mediante los usos de la invención. Los pacientes que tienen dislipidemia o niveles alterados de lípidos en comparación con los normales se pueden tratar mediante la administración de amilina o agonistas de amilina. Los pacientes diabéticos y obesos, así como otros que estén genéticamente predispuestos a dislipidemia o enfermedad cardiovascular, son particularmente adecuados para el tratamiento con los procedimientos de la invención.

Los usos de la invención, que implican la administración de una amilina o agonista de amilina para reducir los niveles de triglicérido, son beneficiosos para pacientes que tengan elevados los niveles de triglicérido por cualquier motivo. Amilinas, agonistas de amilina, y análogos de amilina, así como sus dosis para uso en la invención, se describen, por ejemplo, en las patentes US N^{ros} 6.143.718, 6.087.334, 5.998.367, 5.686.411, 5.367.052, 5.503.989, 5.124.314 otorgadas, y en las patentes citadas en las anteriores. Los agonistas de amilina preferidos son compuestos de la siguiente fórmula: ¹Al-X-Asn-Thr-⁵Ala-Thr-Y-Ala-Thr-¹⁰Gln-Arg-Leu-B₁-Asn-¹⁵Phe-Leu-C₁-D₁-E₁-²⁰F₁-G₁-Asn-H₁-Gly-²⁵Pro-I₁-Leu-Pro-J₁-³⁰Thr-K₁-Val-Gly-Ser-³⁵Asn-Thr-Tyr-Z (SEC DE ID. N^o 1) en la que

A₁ es Lys, Ala, Ser o hidrógeno;

B₁ es Ala, Ser o Thr;

C₁ es Val, Leu o Ile;

D es His o Arg;

E₁ es Ser o Thr;

F₁ es Ser, Thr, Gln o Asn;

ES 2 316 757 T3

G₁ es Asn, Gln o His;

H₁ es Phe, Leu o Tyr;

5 I₁ es Ile, Val, Ala o Leu;

J₁ es Ser, Pro o Thr;

K₁ es Asn, Asp o Gln;

10

X e Y son restos de aminoácido independientemente seleccionados que tienen cadenas laterales químicamente enlazadas entre sí para formar una unión intramolecular en la que dicha unión intramolecular es un enlace disulfuro, una lactama o una unión tioéter y Z es amino, alquilamino, dialquilamino, cicloalquilamino, arilamino, aralquilamino, alquiloxi, ariloxi o aralquiloxi; y con la condición de que cuando A₁ es Lys, B₁ es Ala, C₁ es Val, D₁ es Arg, E₁ es Ser, F₁ es Ser, G₁ es Asn, H₁ es Leu, I₁ es Val, J₁ es Pro, y K₁ es Asn; entonces uno o más de A₁ a K₁ es un D-aminoácido y Z se selecciona entre el grupo constituido por alquilamino, dialquilamino, cicloalquilamino, arilamino, aralquilamino, alquiloxi, ariloxi o aralquiloxi.

15

20 Un agonista de amilina particularmente preferido es pramlintida (^{25,28,29}Pro-h-amilina). Otros agonistas de amilina preferidos incluyen des-¹Lys-h-amilina, ²⁵Pro-²⁶Val^{28,29}Pro-h-amilina, ¹⁸ASrg^{25,28}Pro-h-amilina, des-¹Lys¹⁸Arg^{25,28}Pro-h-amilina, ¹⁸Arg^{25,28,29}Pro-h-amilina, des-¹Lys¹⁸Arg^{25,28,29}Pro-h-amilina, ^{25,28,29}Pro-h-amilina, des-¹Lys^{25,28,29}Pro-h-amilina, ²⁵Pro-²⁶Val^{28,29}Pro-h-amilina, ²⁸Pro-h-amilina, ^{2,7}Ciclo-[²Asp,⁷Lys]-h-amilina, ²⁻³⁷h-amilina, ¹Ala-h-amilina, ¹Ser-h-amilina, ²⁹Pro-h-amilina, ^{25,28}Pro-h-amilina, des-¹Lys^{25,28}Pro-h-amilina, ²³Leu²⁵Pro²⁶Val^{28,29}Pro-h-amilina, ²³Leu²⁵Pro²⁶Val²⁸Pro-h-amilina, des-¹Lys²³Leu²⁵Pro²⁶Val²⁸Pro-h-amilina, ¹⁸Arg²³Leu²⁵Pro²⁶Val²⁸Pro-h-amilina, ¹⁸Arg²³Leu^{25,28,29}Pro-h-amilina, ¹⁸Arg²³Leu^{25,28}Pro-h-amilina, ¹⁷Ile²³Leu^{25,28,29}Pro-h-amilina, ¹⁷Ile^{25,28,29}Pro-h-amilina, des-¹Lys¹⁷Ile²³Leu^{25,28,29}Pro-h-amilina, ¹⁷Ile¹⁸Arg²³Leu-h-amilina, ¹⁷Ile¹⁸Arg²³Leu²⁶Val²⁹Pro-h-amilina, ¹⁷Ile¹⁸Arg²³Leu²⁵Pro²⁶Val^{28,29}Pro-h-amilina, ¹³Thr²¹His²³Leu²⁶Ala²⁸Leu²⁹Pro³¹Asp-h-amilina, ¹³Thr²¹His²³Leu²⁶Ala²⁹Pro³¹Asp-h-amilina, des-¹Lys¹³Thr²¹His²³Leu²⁶Ala²⁸Pro³¹Asp-h-amilina, ¹³Thr¹⁸Arg²¹His²³Leu²⁶Ala²⁹Pro³¹Asp-h-amilina, ¹³Thr¹⁸Arg²¹His²³Leu^{28,29}Pro³¹Asp-h-amilina, y ¹³Thr¹⁸Arg²¹His²³Leu²⁵Pro²⁶Ala^{28,29}Pro³¹Asp-h-amilina.

30

Un profesional clínico puede además determinar las dosis adecuadas usando parámetros conocidos, sin excluir experimentación. Las variables a tener en cuenta incluyen el peso del paciente, estado físico, la potencia del agonista que está siendo usado, etc. Además de las descritas en el presente documento, se pueden usar pautas terapéuticas como las que se proporcionan en *Diabetes Technol Ther* 2002, 4(1):51-61; *Diabetes Care* 2002, 25(4):724-730; *Diabetes* 1997,46 (4):632-6; *Diabet Med* 1997, 14(7):547-55; *Diabetes Care* 1998, 21(6):987-93; *Diabetes* 2000, 49(1):A109; *Diabetes* 2000,49 (sup11):A106; *Diabetes Care* 2003, 26(1):1-8; *Diabetes Technol Ther* 2002, 4(2):175-189; o *Clin Diabetes* 2002, 20:137-144 con los procedimientos de la presente invención.

35

La presente invención se puede usar también para tratar pacientes que padecen aterosclerosis con o sin niveles elevados de colesterol. Aunque los solicitantes no desean quedar ligados por la teoría, se cree que este beneficio está causado por el efecto de disminuir los niveles de triglicérido sobre la capacidad de lipoproteína lipasa para aclarar los triglicéridos de la circulación periférica. Lipoproteína lipasa, además de su función de catalizar la rotura de los triglicéridos circulantes, cataliza la conversión de la lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) en lipoproteína de densidad intermedia (IDL), que posteriormente se convierte en lipoproteínas de alta densidad y de baja densidad (HDL y LDL). A medida que disminuyen los niveles de triglicérido circulante, la lipoproteína lipasa queda disponible para catalizar adicionalmente IDL hasta el punto en que IDL queda eliminada por el hígado debido a su conversión a LDL y/o HDL, que a su vez se puede secuestrar adecuadamente en los tejidos. Esto puede dar como resultados una mejora neta en los niveles de colesterol total/lípido en un paciente. Los procedimientos de la presente invención por tanto incluyen un procedimiento para mantener o disminuir los niveles de colesterol en un paciente, y particularmente en un paciente que tenga colesterol alto o aterosclerosis/aterogénesis. Pacientes distintos de los que padecen diabetes pueden también tratarse mediante la presente invención. Se describen también procedimientos para mantener o disminuir el nivel de IDL en un paciente.

50

Según se usa en el presente documento, “tratar los niveles de triglicérido elevados en un paciente” significa tanto evitar un aumento en dichos niveles o producir una disminución en aquellos niveles relativos al nivel anterior al tratamiento.

55

Según se usa en el presente documento, “reducir excursiones de triglicérido postprandial” significa reducir tanto la concentración punta como el área total bajo la curva de concentración de triglicérido que se ve en los pacientes tras tomar una comida. Esto típicamente significará disminuir el área total bajo la curva en un gráfico como el que se proporciona en las figs. 2-4 en la hora siguiente a una comida.

60

Según se usa en el presente documento “reducir los niveles de lípido circulante” en un paciente significa reducir la cantidad mensurable de lípidos en sangre relativa al nivel antes del tratamiento.

65

Según se usa en el presente documento, “tratar dislipidemia” significa mejorar o restaurar hasta un nivel, relación, perfil o balance cercano al medicamento definido como normal y/o saludable cualquiera o todos los parámetros de

ES 2 316 757 T3

lípidos o lipoproteínas clínicamente mensurables. Esto incluye, pero no se limita a, los niveles de triglicéridos, LDL, HDL, IDL, VLDL, colesterol total, apolipoproteínas, etc.

5 Según se usa en el presente documento, “mejorar el perfil lipídico circulante en un paciente” significa producir un cambio en la concentración de uno o más lípidos que aparecen en la sangre con el fin de cambiar el contenido total de lípidos del paciente hasta un estado preferido. También puede incluir desplazar la distribución de lípidos sobre diferentes fracciones de lipoproteína sin cambiar el contenido/concentración total de los lípidos circulantes.

10 Según se usa en el presente documento, “tratar hipertrigliceridemia” en un paciente significa producir una disminución en la concentración de triglicéridos en la sangre del paciente en uno o más momentos relevantes, por ejemplo en ayunas o postprandial.

15 Según se usa en el presente documento “reducir triglicéridos circulantes postprandiales” en un paciente significa disminuir la cantidad mensurable de triglicéridos en la circulación tras una comida (por ejemplo, en el periodo de aproximadamente 4-6 horas tras la comida) relativa al nivel de dichos lípidos vistos postprandialmente en el paciente antes o sin tratamiento con una comida similar.

20 Las dosis preferidas en los usos de la invención incluyen administrar al paciente una cantidad de amilina o agonista de amilina entre aproximadamente 0,125 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dosis}$ y aproximadamente 5,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dosis}$, o entre aproximadamente 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dosis}$ y aproximadamente 4,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dosis}$, o entre aproximadamente 1,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dosis}$ y aproximadamente 3,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dosis}$. En una forma de realización preferida, un paciente que padece diabetes tipo I o que tiene un índice de masa corporal (IMC) inferior a aproximadamente 28-30 m^2/kg recibe una dosis de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 90,0 $\mu\text{g}/\text{dosis}$, más preferiblemente de aproximadamente 10,0 a aproximadamente 70,0 $\mu\text{g}/\text{dosis}$, y más preferiblemente de aproximadamente 30,0 a 60,0 $\mu\text{g}/\text{dosis}$. En una forma de realización preferida, un paciente que padece diabetes tipo II o que tiene un IMC de o superior a aproximadamente 30 m^2/kg recibe una dosis de aproximadamente 20,0 a aproximadamente 360,0 $\mu\text{g}/\text{dosis}$, o de aproximadamente 90,0 a aproximadamente 240,0 $\mu\text{g}/\text{dosis}$. Los momentos preferidos para la administración son alrededor de la comida, preferiblemente la principal o una con alto contenido en grasa. Los momentos preferidos para la administración incluyen aproximadamente -120, -60, -45, -30, -15, 0, 15, 30, 45, 60 y 120 minutos en relación al momento de la comida, preferiblemente entre -60 y 60 minutos de la comida, más preferiblemente -15 min antes a 15 min después de la comida. Obviamente no se administrarán formulaciones de depósito o de liberación continua *per se*, ya que los niveles de amilina o antagonista de amilina estarán presente en estos momentos preferidos. Para formulaciones no de depósito, se administrarán diariamente aproximadamente 1-5 dosis. La administración no necesita estar asociada a todas las comidas, pero preferiblemente se asocia a comidas grandes o con alto contenido en grasa.

35 Se puede emplear cualquier procedimiento de administración conocido en la técnica para dosificar la amilina o antagonista de amilina de la invención. Por ejemplo, se puede usar dosificación mediante inyección, oral, nasal, periférica, pulmonar, transdérmica, transmucosal o continua (por ejemplo, mediante una bomba o depósito o matriz inhalable; véase por ejemplo Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª edición. (1995) Mack Publishing Company, Easton, Pasadena; incorporado al presente documento por referencia). La administración preferida es por vía subcutánea o formulación de liberación continua.

40 Se contempla la administración a corto o largo plazo de amilina o antagonista de amilina, ya que los efectos se ven con una dosis única reduciendo los niveles de lípidos en plasma. Sin embargo, preferiblemente se proporcionan múltiples dosis durante un intervalo de tiempo (por ejemplo, más de una semana) para aumentar y mantener la eficacia en la disminución de lípidos circulantes/plasmáticos.

50 Los siguientes ejemplos ilustran algunos aspectos de la invención, y no se pretende que la limiten de manera alguna.

Ejemplo 1

55 *Este estudio evalúa el efecto del agonista de amilina pramlintida sobre la glucosa postprandial en plasma y excursiones de triglicérido en pacientes con diabetes tipo-1 intensivamente tratados con infusión subcutánea continua de insulina (CSII)*

60 Los 23 pacientes de este estudio tenían ≥ 16 años de edad, tenían diabetes tipo-I durante \geq un año y habían sido intensivamente tratados (CSII, basal/pauta de bolus) durante al menos 6 meses. Los pacientes estaban usando Insulina tanto lispro ($n = 21$) o regular ($n = 2$), no habían cambiado sus dosis diaria de insulina en más de un 10% durante 2 meses antes del estudio y no tuvieron síntomas hipo- e hiperglicémicos graves durante al menos 4 semanas antes del estudio. Los criterios de exclusión incluyeron un historial clínico significativo de presencia de enfermedad del corazón, hipertensión incontrolada (presión sanguínea $\geq 160/90$ mm Hg), trastornos gastrointestinal, hepático, renal, o del sistema nervioso central, enfermedad aguda, un historial de adicción a drogas o alcohol o tratamiento con fármacos conocidos por afectar la motilidad gastrointestinal o el metabolismo de la glucosa.

65 El estudio consistió en 3 periodos de tiempo (inicio, 4 semanas de terapia, 2 semanas sin terapia). Al final de cada periodo de tiempo (semanas 0, 4, 6), los pacientes se evaluaron en el centro de investigación clínica (CRC, *por sus siglas en inglés*). Cada evaluación incluyó la prueba del alimento estandarizado.

ES 2 316 757 T3

La primera evaluación (inicial) se realizó cuando los pacientes estaban únicamente tratados con su pauta CSII habitual. Tras la evaluación inicial, los pacientes se aleatorizaron para autoadministrarse placebo (n = 6) o pramlintida (n = 17) TID en las comidas principales, además de su terapia CSII anterior, durante 4 semanas. El grupo placebo se incluyó para proporcionar datos que pudieran usarse para determinar un adecuado análisis de potencia para planificar futuros estudios, y no a efectos de comparaciones con el placebo. La medicación del estudio se autoadministra en los 15 minutos anteriores a una comida principal, y se inyecta s. c. en la pared abdominal anterior opuesta al punto de inserción del catéter CSII. Para minimizar el riesgo de hipoglucemia al inicio del tratamiento con pramlintida, se instruyó a todos los pacientes que redujeran sus dosis de insulina preprandial en un 10-20% durante los primeros 3 días de terapia y evaluar posteriormente sus dosis de insulina como está clínicamente indicado. Los pacientes registran su régimen de insulina diario durante todo el estudio. Las pautas de insulina junto con los resultados del autocontrol de glucosa en sangre, fueron revisadas por el investigador en cada visita y, consistente con una buena práctica médica, se ajustaron según se consideró necesario.

Tres días antes del final de la semana 4 del periodo de terapia, los sujetos volvieron al Centro de investigación clínica (CRC) para repetir el test de alimento estandarizado a la vez que recibían la medicación del estudio. Los sujetos después volvieron a su terapia anterior (CSII solo) y, tras 2 semanas, volvieron al CRC para el tercer test de alimento estandarizado (periodo sin terapia).

En cada una de las 3 visitas al CRC, los tres pacientes se sometieron a un test de alimento mixto estandarizado la mañana después de una noche en ayunas. El alimento estaba constituido por 1 bollo, 1 loncha de queso, zumo de naranja, margarina, y leche al 2% (20% de las necesidades diarias de calorías; 55%, 15%, y 30% de calorías derivadas de hidratos de carbono, proteína y grasa, respectivamente) y se ingirió completamente en 5 minutos. Los pacientes recibieron una inyección s.c. de medicación del estudio (pramlintida o placebo) 15 min antes de la comida y se administraron su dosis de insulina preprandial inmediatamente antes de la comida. Se tomaron muestras de sangre a -30, -15, 30, 60, 90, 120, y 180 minutos relativos al alimento estandarizado para determinar las concentraciones de glucosa y triglicérido en plasma. Las muestras de sangre se procesaron según la práctica clínica normalizada usando un laboratorio de referencia y productos comercialmente disponibles (por ejemplo, ensayos cuantitativos enzimáticos *in vitro* para triglicéridos GPO-PAP, Roche Diagnostics).

El principal resultado variable del test de alimento estandarizado desde el principio son los cambios en el área incremental bajo la curva (AUC) para concentraciones de glucosa y triglicérido con el tiempo durante el periodo inicial, de terapia y sin terapia en el grupo de tratamiento con pramlintida. Durante el periodo inicial, los pacientes mostraron excursiones de triglicérido postprandial (relativas a las concentraciones en ayunas) con un área incremental promedio bajo la curva (AUC) de $65,7 \pm 87,6$ mg.dL⁻¹.min (Fig 1). Al final de la semana 4 de tratamiento con pramlintida, las excursiones de triglicérido postprandial mejoraron marcadamente, con un AUC incremental promedio de $16,7 \pm 56,8$ mg.dL⁻¹.min ($p < 0,05$) (Fig 1). En la semana 6, 2 semanas después de que los sujetos volvieran a su terapia pretratamiento (CSII solo), las excursiones de triglicérido postprandial volvieron a sus valores iniciales, con una AUC incremental de $56,2 \pm 87,3$ mg.dL⁻¹.min (Fig 1).

Los datos muestran que la adición de pramlintida a insulina no sólo reduce la respuesta de glucosa postprandial, sino que también la respuesta de triglicérido postprandial a una comida mixta en pacientes diabéticos de tipo-1. Los protocolos alternativos de administración pueden alterar los niveles de triglicérido en ayunas, por ejemplo, usando infusión o formulación de larga duración, o pautas terapéuticas de dosificación múltiple.

Aunque el mecanismo exacto que subyace la reducción observada en la respuesta de triglicérido postprandial con pramlintida no se ha elucidado todavía, y los solicitantes no desean quedar ligados por la teoría, es posible que el efecto de pramlintida ralentizando el vaciado gástrico tenga un papel importante. Ralentizando la aportación de los nutrientes ingeridos (hidratos de carbono, lípidos y proteínas) desde el estómago al intestino delgado, pramlintida posiblemente repara no solo la entrada de glucosa a la circulación sino también la entrada de quilomicrones y otras lipoproteínas derivadas del alimento (1,7). Esto ayuda a relacionar mejor la tasa de aclaramiento de lipoproteína, por tanto, limitando las excursiones de triglicérido postprandial. Es de interés que el efecto del triglicérido postprandial observado en este estudio se produce en pacientes con niveles de triglicérido en ayunas relativamente bajos y en respuesta a un alimento con un contenido en grasa relativamente bajo. Los efectos de disminución del lípido postprandial de pramlintida u otros agonistas de amilina será más pronunciado en pacientes que tengan una dieta que contenga una carga lipídica mayor, o en pacientes hiperlipidémicos, o en (por ejemplo, diabéticos, tipo II). Este efecto de disminución del lípido postprandial ofrece una importante ventaja clínica adicional de pramlintida, dado que muchos de los pacientes diabéticos de tipo-1 y tipo-2 experimentan hiper- y dislipidemia postprandial (6,8), que son un factor de riesgo cardiovascular bien establecidos.

60 Ejemplo 2

En este ejemplo, se diseñó un estudio cruzado aleatorizado ciego simple controlado por placebo de cinco brazos para examinar el efecto de la pauta de la inyección de pramlintida en relación a la ingesta de alimento sobre los perfiles de glucosa y triglicéridos postprandiales en plasma en sujetos con diabetes tipo 1 y sujetos con diabetes tipo 2 que usan insulina. Tres grupos de estudio fueron definidos según el tipo de diabetes y la insulina usada en el momento de las comidas en su pauta terapéutica. En 5 días de estudio, los sujetos recibieron una dosis única de uno de cinco tratamientos (A, B, C, D, o E) en orden aleatorio:

ES 2 316 757 T3

	Tratamiento	Medicación del estudio	Pauta relativa a un desayuno estandarizado
5	A	Placebo	-15 minutos
	B	Pramlintida	-15 minutos
	C	Pramlintida	0 minutos
10	D	Pramlintida	+ 15 minutos
	E	Pramlintida	+ 30 minutos

15 Cada tratamiento (pramlintida o placebo) se administró subcutáneamente (SC) en momentos concretos relativos a un desayuno estandarizado tras una noche de ayuno. Los sujetos se asignaron aleatoriamente a una de cuatro secuencias de tratamiento según un calendario de aleatorización generado para cada grupo de estudio.

20 Los sujetos con diabetes tipo 1 recibieron pramlintida 60 μg o placebo (volumen equivalente). Los sujetos con diabetes tipo 2 que usaban insulina recibieron pramlintida 120 μg o placebo (volumen equivalente). Los sujetos mantuvieron su pauta habitual de insulina durante el estudio; según necesidad se ajustaron las dosis de insulina en consulta con el personal del estudio para facilitar conseguir valores de glucosa en ayunas medidas con glucómetro en el intervalo de ≥ 80 mg/dl y ≤ 250 mg/dl evitando a la vez la hipoglicemia. La pauta de dosis de insulina de corta duración relativa al desayuno estandarizado está basada en las recomendaciones de los respectivos prospectos de la insulina (0 min para insulina lispro y -30 para insulina regular).

30 La población del estudio estaba constituida por tres grupos de estudio, definidos por el tipo de diabetes y el tipo de insulina usada a la hora de comer en su pauta terapéutica. Grupo de estudio 1: sujetos con diabetes tipo 1 usando insulina lispro. Grupo de estudio 2: sujetos con diabetes tipo 1 usando insulina regular. Grupo de estudio 3: sujetos con diabetes tipo 2 usando insulina lispro. Se alistaron en el estudio cincuenta y nueve sujetos (21 sujetos de tipo 1 usando insulina lispro; 19 sujetos tipo 1 usando insulina regular; y 19 sujetos tipo 2 usando insulina lispro).

35 Los grupos tenían las siguientes características. Sujetos de tipo 1 Usando Insulina Lispro: de los 21 sujetos aleatorizados, 8 (38,1%) eran mujeres y 13 (61,9%) hombres. La mayoría de los sujetos eran caucásicos (61,9%), y el promedio de edad de la población de sujetos fue de 40,8 años. A través de las secuencias de tratamiento, la duración promedio de la diabetes oscila de 17,1 años a 24,2 años; la HbA_{1c} promedio fue de 8,1% a 8,7%; y el IMC promedio oscila entre 24,9 kg/m² y 27,2 kg/m². Con la excepción de la duración de la diabetes, las características iniciales parecen similares para las secuencias de tratamiento.

40 Sujetos de tipo 1 Usando Insulina Regular: de los 19 sujetos aleatorizados, 5 (26,%) eran mujeres y 14 (73,7%) hombres. La mayoría de los sujetos eran caucásicos (57,9%), y el promedio de edad de la población de sujetos fue de 37,3 años. A través de las secuencias de tratamiento, la duración promedio de la diabetes oscila de 15,3 años a 28,8 años; la HbA_{1c} promedio fue de 9,0% a 9,6%; y el IMC promedio oscila entre 25,0 kg/m² a 28,0 kg/m². Con la excepción de la duración de la diabetes, las características iniciales parecen similares para las secuencias de tratamiento.

50 Sujetos de tipo 2 usando Insulina Lispro: de los 19 sujetos aleatorizados, 10 (52,6%) eran mujeres y 9 (47,4%) hombres. La mayoría de los sujetos eran hispanicos (52,6%), y el promedio de edad de la población de sujetos fue de 49,6 años. A través de las secuencias de tratamiento, la duración promedio de la diabetes oscila de 8,2 años a 26,6 años; la HbA_{1c} promedio fue de 8,7% a 10,2%; el IMC promedio oscila entre 31,0 kg/m² a 37,4 kg/m². Con la excepción de la duración de la diabetes, HbA_{1c} e IMC, las características iniciales parecen similares para las secuencias de tratamiento.

55 La sustitución con amilina mediante inyecciones subcutáneas de pramlintida justo antes y hasta 30 minutos después de la comida mejoró marcadamente las excursiones de glucosa postprandial, y las concentraciones de triglicérido postprandial en pacientes tipo 1 tratados con insulina tanto lispro como regular, y en pacientes tipo 2 tratados con insulina lispro, como se muestra en las figs. 2, 3, y 4.

60 Las figuras muestran que la sustitución de amilina a la hora de la comida con inyecciones subcutáneas de pramlintida justo antes y hasta 30 minutos después de la comida mejoró marcadamente las excursiones de glucosa postprandial, y las concentraciones de triglicérido postprandial en pacientes tipo 1 tratados con insulina tanto lispro como regular, y en pacientes tipo 2 tratados con insulina lispro.

65 1. Kong MF, Stubbs TA, King P, Macdonald IA, Lambourne JE, Blackshaw PE, Perkins AC, Tattersall RB: The effect of single doses of pramlintide on gastric emptying of two meals in men with IDDM. *Diabetologia* 41: 577-583, 1998.

ES 2 316 757 T3

2. **Nyholm B, Orskov L, Hove KY, Gravholt CH, Moller N, Alberti KG, Moyses C, Kolterman O, Schmitz O:** The amilyn analog pramlintide improves glycemic control and reduces postprandial glucagon concentrations in patients with type 1 diabetes mellitus. *Metabolism* 48: 935-941, 1999.

5 3. **Fineman M, Koda JE, Shen LZ, Strobel SA, Maggs D, Weyer C, Kolterman O:** The human amilyn analogue, pramlintide, corrects postprandial hyperglucagonemia in patients with type I diabetes. *Metabolism* 51 (5): 636-641, 2002.

10 4. **Thompson RG, Peterson J, Gottlieb A, Mullane J:** Effects of pramlintide, an analog of human amilyn, on plasma glucose profiles in patients with IDDM: Results of a multicenter trial. *Diabetes* 46: 632-636, 1997.

15 5. **Whitehouse F, Kruger DF, Fineman M, Shen L, Ruggles JA, Maggs DG, Weyer C, Kolterman OG:** A randomized study and open-label extension evaluating the long-term efficacy of pramlintide as an adjunct to insulin therapy in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 25 (4): 724-730, 2002.

6. **Georgopoulos A.** Postprandial triglyceride metabolism in diabetes mellitus. *Clin Cardiol* 22 (6 Supl): II28-33, 1999.

20 7. **Weyer C, Maggs DG, Young AA, Kolterman OG:** Amilyn replacement with pramlintide as an adjunct to insulin therapy in type 1 and type 2 diabetes mellitus: a physiological approach toward improved metabolic control. *Curr Pharm Des* 7: 1353-73, 2001.

25 8. **Verges BL.** Dyslipidaemia in diabetes mellitus. Review of the main lipoprotein abnormalities and their consequences on the development of atherogenesis. *Diabetes & Metab* 25 (Supl 3): 32-40, 1999.

La descripción y ejemplos anteriores pretenden ser ilustrativos. Las personas expertas en la técnica a la que pertenece la invención apreciarán que se pueden realizar alteraciones y cambios en los protocolos descritos sin separarse del significado, espíritu y alcance de esta invención.

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 316 757 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de una composición que comprende una amilina o agonista de amilina para la fabricación de un medicamento para tratar la dislipidemia en un paciente, en el que el medicamento reduce las excursiones de triglicérido postprandial y en donde el agonista de amilina es un análogo de amilina o un derivado de amilina.
2. Uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento reduce los niveles de lípidos circulantes.
- 10 3. Uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento mejora los niveles de lípidos circulantes.
4. Uso de una composición que comprende una amilina o agonista de amilina para la fabricación de un medicamento para tratar la hipertrigliceridemia en un paciente, en el que el medicamento reduce las excursiones de triglicérido postprandial y en donde el agonista de amilina es un análogo de amilina o un derivado de amilina.
- 15 5. Uso según las reivindicaciones 1-4, en el que uno o más niveles de lípidos están elevados en periodos de ayuno y/o periodos postprandiales.
6. Uso según la reivindicación 5, en el que el nivel de lípidos es el nivel de triglicéridos, HDL, LDL o VLDL.
- 20 7. Uso según las reivindicaciones 5 y 6, en el que el lípido es triglicérido.
8. Uso según las reivindicaciones 1-7, en el que el medicamento se formula para administrar amilina o agonista de amilina a una dosis entre aproximadamente 0,125 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dosis}$ y aproximadamente 5,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dosis}$.
- 25 9. Uso según las reivindicaciones 1-7, en el que el medicamento se formula para administrar amilina o agonista de amilina a una dosis entre aproximadamente 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dosis}$ y aproximadamente 4,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dosis}$.
10. Uso según la reivindicación 1, en el que el análogo de amilina es pramlintida.
- 30 11. Uso según las reivindicaciones 1-10, en el que el paciente tiene diabetes mellitus.
12. Uso según las reivindicaciones 1-11, en el que el paciente tiene un riesgo superior a la media de enfermedad cardiovascular.
- 35 13. Uso según las reivindicaciones 1-12, en el que el paciente es obeso.
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

Figura 1. Efecto de pramlintida sobre la glucosa postprandial y las excursiones de triglicérido tras un test con alimento mixto estandarizado.

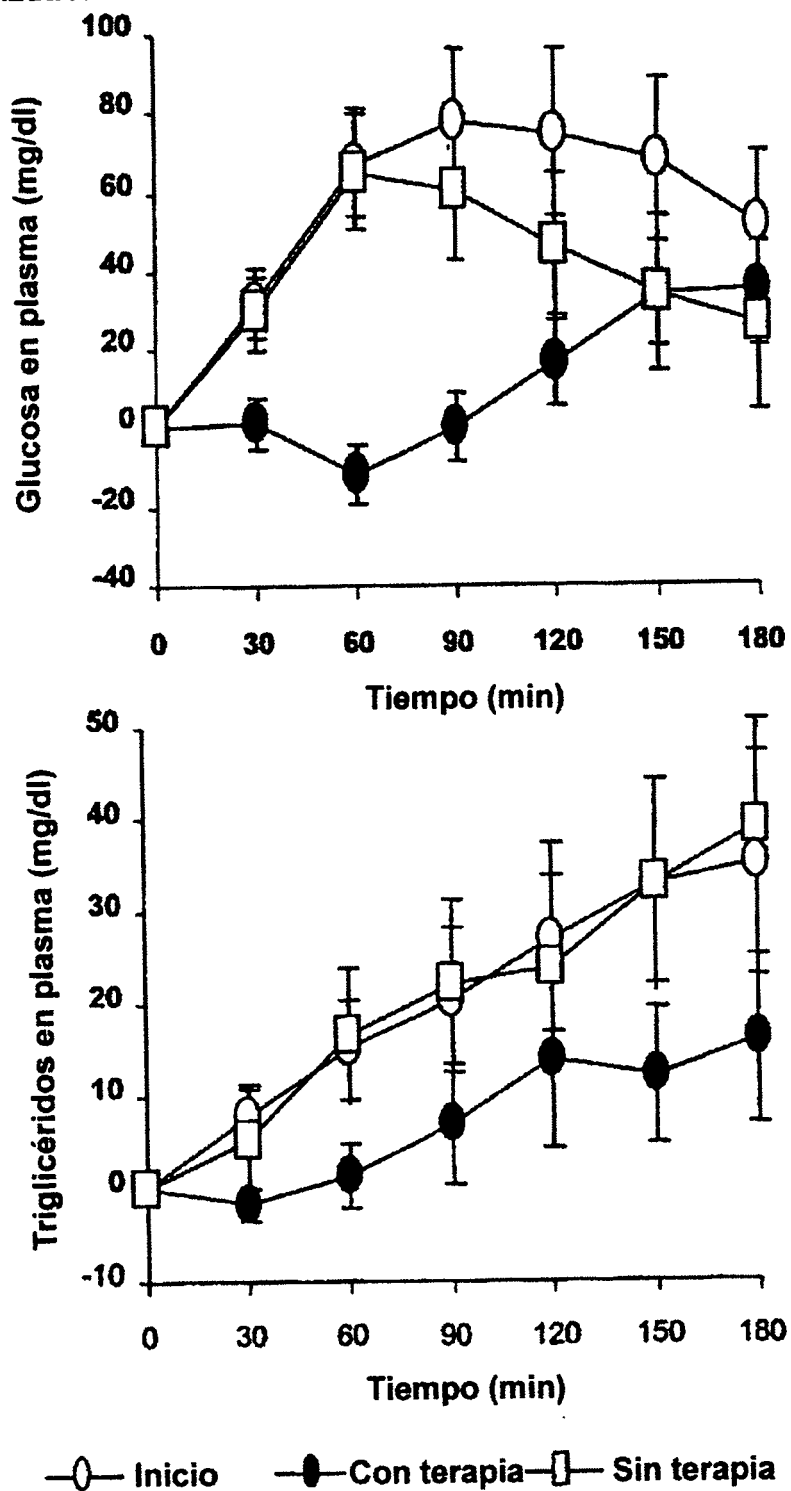


Figura 1

Promedio del aumento de concentración de triglicérido postprandial en Tipo 1 Lispro

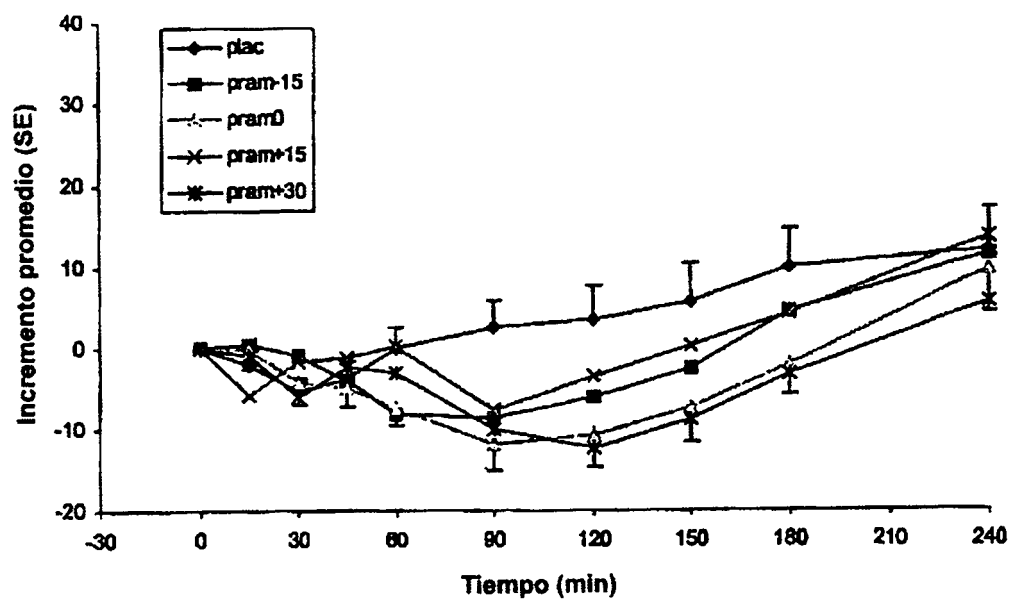


Figura 2

Tipo 1 regular: promedio del aumento de concentración de triglicérido postprandial

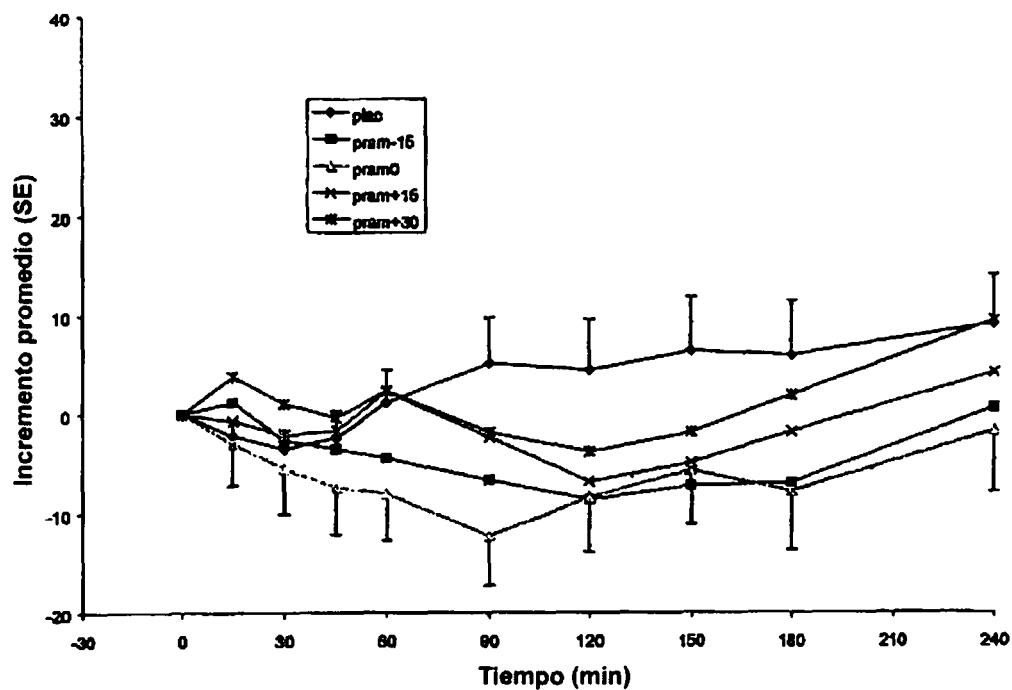


Figura 3

Tipo 2 Lispro: promedio del aumento de concentración de triglicérido postprandial

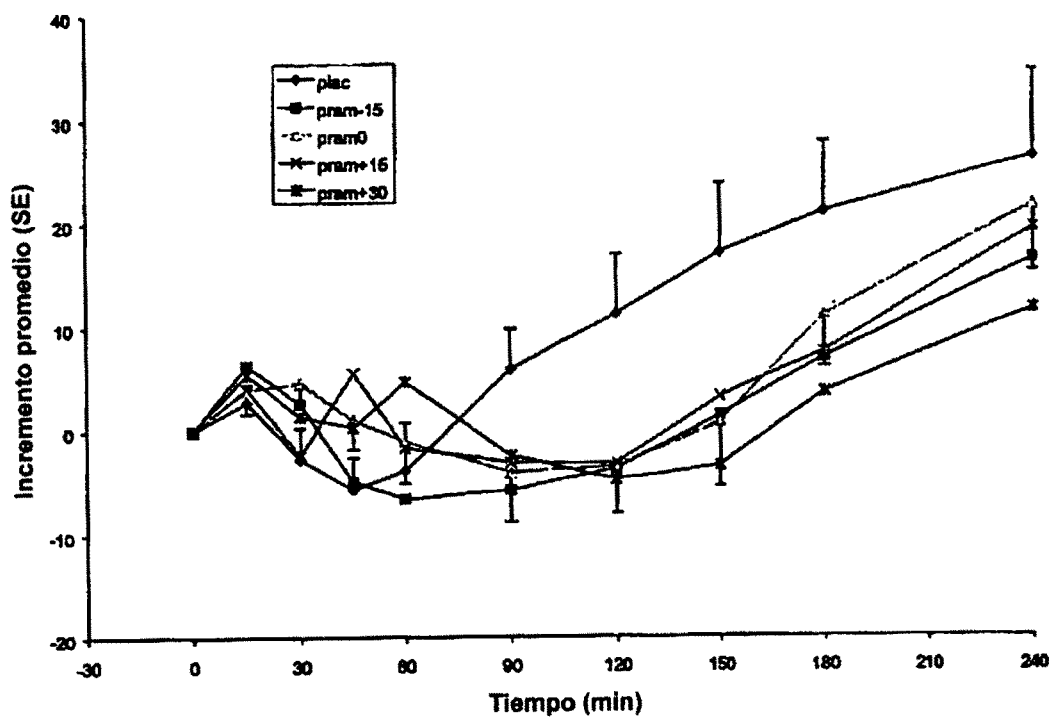


Figura 4