

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado(a)/Señor(a)
CARLOS REINALDO OLARTE GARCIA

Asunto:	Radicación:	10-160886- 27
	Trámite:	11
	Evento:	379
	Actuación:	519
	Oficio:	12946
	Folios:	18

Patente de Invención	X			Patente de Modelo de Utilidad	
Vía Nacional					
Vía PCT (Fase Nacional)	X	Capítulo I		Capítulo II	X
No. Solicitud Internacional	PCT/US2009/046704				
Fecha de Presentación Internacional	09/06/2009				

Como resultado del examen de fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

Descripción:	Radicado No. 10-0160886-00000-0000	22/Diciembre/2010
Reivindicaciones:	Radicado No. 10-0160886-00000-0000	22/Diciembre/2010
	Radicado No. 10-0160886-00003-0000	04/Abril/2011
	Radicado No. 10-0160886-00017-0000	14/Mayo/2013
Dibujos:	Radicado No. 10-0160886-00000-0000	22/Diciembre/2010
Secuencias:	Radicado No. 10-0160886-00000-0000	22/Diciembre/2010
Oposiciones:	Radicado No. 10-0160886-00005-0000	Procaps S.A. 16/Diciembre/2012
	Radicado No. 10-0160886-00006-0000	Lafrancol 18/Enero/2012
Respuestas de la solicitante:	Radicado No. 10-0160886-00010-0000	01/Agosto/2012
	Radicado No. 10-0160886-00011-0000	01/Agosto/2012
Prioridad:	US 61/061.281 US 61/121.394	12/Junio/2008 10/Diciembre/2008

Expediente 10-160886- -27

Se acepta la reivindicación de prioridad porque ésta solicitud fue presentada dentro del plazo establecido (Art. 9 D 486) y su contenido técnico corresponde con el de la prioridad reivindicada.

3. Objeto de la invención

De acuerdo con lo establecido en el numeral 1.2.2.2 del capítulo primero del Título 10 de la Circular Única para efectos del examen de patentabilidad, se tendrá en cuenta la tasa pagada por el solicitante al momento de comenzar el examen para las reivindicaciones adicionales; esto es que cuando la solicitud contenga más de diez (10) reivindicaciones y no se haya pagado la tasa complementaria, sólo se estudiarán las cubiertas por la tasa pagada. Para la presente solicitud se estudió el capítulo reivindicatorio completo (Radicado No. 10-0160886-00017-0000).

Título de la solicitud: “compuestos de insulina lispro pegilada”

El problema planteado en esta solicitud consiste en la necesidad de suministrar moléculas útiles para terapias de reemplazo de insulina.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona un compuesto de insulina lispro PEGilada de la fórmula $P-[(A)-(B)]$, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, caracterizado porque A es la cadena A de la insulina lispro (SEQ ID NO: 1); B es la cadena B de insulina lispro (SEQ ID NO: 3); y P es un PEG que tiene peso molecular en el intervalo desde el 17.5 kDa hasta 40kDa, y en donde A y B contienen un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 7 de la SEQ ID NO:1 y la cisteína en la posición 7 de la SEQ ID NO:3, un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 20 de la SEQ ID N:1 y la cisteína en la posición 19 de la SEQ ID NO: 1 y un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 6 de la SEQ ID NO:1 y la cisteína en la posición 11 de la SEQ ID NO:1 y P está unido, vía un enlace covalente de uretano, al grupo epsilon-amino de la lisina de la posición 28 de B.

El objeto de la presente solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP):

A61K 38/28, A61K 47/48.

4. Excepción a la Patentabilidad (Art 20 D 486 literal (d))

El objeto de la reivindicación 5 no es patentable de acuerdo con el Art citado, puesto que hace referencia a un método de tratamiento en humanos.

5. De la solicitud de patente

Título

De acuerdo con el objeto estudiado se modifica el título de la invención, el cual quedará de la siguiente manera: "COMPUESTOS DE INSULINA MODIFICADA [B28-L-lisina, B29-L-prolina] Y PEGILADA".

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

El término *lispro* corresponde a una denominación internacional asignada por la OMS para una insulina modificada y según la guía INN¹ dicho dígito debe citarse siempre indicando las posiciones y los aminoácidos que presentan los cambios, es decir, en la forma [B28-L-lisina, B29-L-prolina]. Se sugiere hacer las correcciones necesarias en todo el capítulo reivindicatorio.

¹ International Nonproprietary Names (INN) for biological and biotechnological substances. Pág. 23 - 24. En línea: <http://www.who.int/medicines/services/inn/BioRev2013.pdf>.

Las reivindicaciones 1 - 3 hacen referencia a un rango o intervalo el cual es impreciso y no permite distinguir la invención del estado de la técnica. Se sugiere sustituirlo por un término preciso o un rango concreto. Además, no existe sustento para un compuesto que comprenda un PEG de cualquier tamaño comprendido entre dichos intervalos. Se recuerda a la solicitante que las reivindicaciones deben estar enteramente sustentadas en la memoria descriptiva.

Una composición farmacéutica debe estar caracterizada a partir del ingrediente activo y excipientes y las proporciones de los mismos (reivindicación 6).

En las reivindicaciones 7 y 8 se sugiere indicar cuál es el agente de isotonicidad seleccionado para distinguir la invención del estado de la técnica. Además, la expresión "donde la composición tiene una isotonicidad entre 270 mOsm y 330 mOsm" corresponde a un resultado a alcanzar y no a una característica técnica de la composición. Se recomienda reemplazar por las cantidades del agente isotónico responsables de dichos valores de isotonicidad.

En la reivindicación 10 debe indicarse el valor de la cantidad terapéuticamente efectiva de insulina lispro.

La reivindicación 11 no es clara porque no especifica la condición bajo la cual se cumple que A y B estén "apropiadamente reticulados". Esta expresión es ambigua y se sugiere reemplazarla por la característica técnica que conlleva a dicha condición. Además, éste proceso no es claro porque caracteriza el proceso por el producto a ser obtenido y no por la serie de pasos secuenciales lógicos necesarios para obtener dicho producto.

6. Análisis de las Oposiciones

Argumentaciones de Procaps S.A.

El opositor argumenta que la presente solicitud carece de nivel inventivo frente al documento EP1172114² ya que el mismo revela una composición farmacéutica que comprende 3 a 20 mM de un análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina], m-cresol, 2 a 4 moles de zinc por cada mol de hexámeros de insulina; 0,001% en peso de 1% en peso de poloxámero 188 y 40 mM de cloruro (reivindicaciones 1 a la 20). Además, el opositor argumenta que la diferencia entre el documento citado y la presente solicitud es el alto peso molecular polietilenglicol (PEG) unido mediante un enlace covalente de uretano al grupo epsilon-amino de la lisina en la posición 28 de la cadena B. Y concluye que cualquier persona versada en la materia puede evidenciar que este cambio modificaría la insulina LISPRO, por lo que la presente carece de altura inventiva.

Argumentaciones de Lafrancol S.A.

El opositor argumenta que la presente solicitud carece de novedad puesto que las composiciones farmacéuticas que se refieren a pegilados de un análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina], útiles en el tratamiento de la hiperglicemia, hipoglicemia, y diabetes, son prácticas y eventos totalmente conocidos en la industria farmacéutica, para lo cual adjunta como prueba la ficha técnica de "The Merck Index" donde se menciona la insulina LISPRO así como sus aplicaciones en el tratamiento de enfermedades y el libro Velasquez 2005³. Adicionalmente, el opositor argumenta que el concepto de PEGilación es amplio y suficientemente conocido como instrumento farmacológico de liberación que ofrece ventajas terapéuticas en numerosas moléculas; dicho proceso consiste en conectar las cadenas de polietilenglicol a moléculas biológicamente activas (incluyendo complejos como las proteínas o las drogas péptido) para aumentar el peso molecular de proteínas y péptidos así como su solubilidad. Por lo tanto, la PEGilación de un análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina] carece de nivel inventivo.

Respuesta de la solicitante

² <http://www.google.com/patents/EP1172114A2>. Fecha de publicación: 16 de enero de 2002

³ Velasquez 2005. Farmacología básica y Clínica. 17a Edición. Editorial Panamericana. 2005. Págs. 620 a 622

Frente a los argumentos de Procaps S.A., la solicitante argumenta que el documento EP1172114 no afecta la novedad ni el nivel inventivo de la presente solicitud puesto que dicho documento no enseña un análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina] de fórmula estructural P-[(A)-(B)], en donde P corresponde a polietilenglicol (PEG) en un peso molecular entre 17.5KDa y 40KDa, unido a través de un enlace covalente de uretano. Argumenta que tampoco le sugiere a la persona medianamente versada en la materia la manera de obtenerlo, ni la forma de obtener un compuesto de insulina con dicha estructura.

Frente a los argumentos de Lafrancol S.A., la solicitante argumenta que los documentos presentados por el opositor no desvirtúan la novedad ni el nivel inventivo de la solicitud puesto que no divulgan explícitamente todas y cada una de las características de la invención y agrega que dichos documentos son simplemente herramientas en el estado de la técnica a las que hubiese acudido una persona medianamente versada en la técnica para intentar investigar y probar posibles soluciones al problema técnico planteado.

Respuesta del Examinador Técnico

De acuerdo con lo expuesto, y el capítulo reivindicatorio radicado bajo el No. 10-0160886-00017-0000, los argumentos presentados por las sociedades opositoras no prosperan como elementos que permitan desvirtuar la patentabilidad de la solicitud que aquí se analiza, puesto que no proporcionan un compuesto de insulina PEGilado con las características reclamadas en la presente invención, ni sugieren la posibilidad de obtener dicha molécula con expectativa de éxito para su posterior aplicación; por lo cual no se considerarán dentro del examen de patentabilidad.

7. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de presentación de la solicitud de prioridad: 13 de junio de 2008, y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	Holleman & Hoekstra 1997	"Insulin LISPRO"	17/Julio/1997
D2	WO2008015099	"Pegylated, Extended Insulins"	07/Febrero/2008
D3	US6890518	"Compositions of chemically modified insulin"	10/Mayo/2005
D4	US2001031726	"Mixed buffer system for stabilizing polypeptide formulations"	18/Octubre/2001

El documento D1⁴ divulga los datos farmacológicos y clínicos de la insulina LISPRO (un análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina]) y su papel en el tratamiento de pacientes con diabetes (Resumen; Pág. 177).

El documento D2⁵ divulga una insulina PEGilada de tiempo de vida media extendida con mayor biodisponibilidad y un de tiempo de acción prolongado frente a la insulina regular y que es en particular adecuada para la administración pulmonar y puede ser utilizada para tratar la diabetes (Resumen).

El documento D3⁶ divulga derivados de la insulina activos que son hidrofílicos y que se encuentran modificados con polímeros. Los derivados de insulina son adecuados para la administración pulmonar y presentan propiedades farmacocinéticas y/o farmacodinámicas mejoradas (Resumen).

4 Holleman, F & Hoekstra, J. 1997. Insulin LISPRO. New England J. Med. 337(3):176-183.

5 <http://www.google.com/patents/WO2008015099A3>

6 <http://www.google.im/patents/US6890518>

El documento D4⁷ divulga una composición farmacéutica que comprende polipéptidos que no son estables de forma soluble (Resumen).

8. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Nivel inventivo (Art18 D486)

La reivindicación 1 consiste en “Un compuesto de insulina lispro PEGilada de la fórmula P-[(A)-(B)], o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, caracterizado porque A es la cadena A de la insulina lispro (SEQ ID NO: 1); B es la cadena B de insulina lispro (SEQ ID NO: 3); y P es un PEG que tiene peso molecular en el intervalo desde el 17.5 kDa hasta 40kDa...”.

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1	D3
Compuesto de insulina LISPRO pegilada	Análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina]	Insulina PEGilada (Párr. [0010])
Cadena A SEC ID NO: 1	Cadena A SEC ID NO: 1 (Fig. 2 Pág. 117)	
Cadena B SEC ID NO: 3	Cadena B SEC ID NO: 3 (Fig. 2 Pág. 117)	
donde A y B contienen un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 7 de la SEQ ID NO:1 y la cisteína en la posición 7 de la SEQ ID NO:3, un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 20 de la SEQ ID N:1 y la cisteína en la posición 19 de la SEQ ID NO: 1 y un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 6 de la SEQ ID NO:1 y la cisteína en la posición 11 de la SEQ ID NO:1	donde A y B contienen un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 7 de la SEQ ID NO:1 y la cisteína en la posición 7 de la SEQ ID NO:3, un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 20 de la SEQ ID N:1 y la cisteína en la posición 19 de la SEQ ID NO: 1 y un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 6 de la SEQ ID NO:1 y la cisteína en la posición 11 de la SEQ ID NO:1 (Fig. 2, Pág. 177)	
PEG de peso molecular de 17.5 kDa hasta 40 kDa unido vía un enlace covalente de uretano, al grupo epsilon-amino de la lisina de la posición 28 de B.	No menciona	PEG de peso molecular de 0.2 a 40KDa (Pcirr. [0084])

El documento D1 es considerado el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque divulga un análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina], que consiste en una cadena A idéntica a la SEQ ID NO: 1 de la presente solicitud y una cadena B idéntica a la SEQ ID NO: 3 de la presente solicitud en la que A y B contienen un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 7 de la cadena A y la cisteína en la posición 7 de la cadena B, entre la cisteína en la posición 20 de la cadena A y la cisteína en la posición 19 de la cadena B y entre la cisteína en la posición 6 de la cadena A y la cisteína en la posición 11 de la cadena A (Pág. 177, Figura 2), donde la característica principal de dicho compuesto es el intercambio de la lisina de la posición 29 con la prolina de la posición 28, de manera que la lisina se encuentra en la posición 28 (Pág. 177, Figura 2).

La diferencia entre el compuesto definido en la reivindicación 1 y el compuesto divulgado en el documento D1 consiste en que la invención se refiere específicamente a un análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina] PEGilado mientras que el documento D1 no hace referencia a la conjugación con el polímero PEG.

El efecto que logra el incluir la PEGilación de la insulina Lispro es que mejora las propiedades farmacocinéticas de la molécula de insulina.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede

⁷ <http://www.google.com/patents/US20010031726>

formular así: cómo modificar la insulina lispro ([B28-L-lisina, B29-L-prolina]) conocida en el documento D1 para conseguir un compuesto con propiedades farmacocinéticas mejoradas.

Sin embargo, la conjugación de moléculas como la insulina con polímeros PEG para mejorar las propiedades farmacocinéticas, ya está divulgada en el documento D3, el cual se refiere a composiciones de insulina acoplada covalentemente a una o más moléculas de polietilenglicol (Párr. [0010]), donde PEG esta unido a la lisina de la posición 29 de la cadena B, y dicho PEG tiene un peso molecular entre 200 y 40000 daltons (Párr. [0284]), en donde dichos conjugados son útiles para la formulación de composiciones solubles en agua y fisiológicamente activas (Parr. [0010]).

Puesto que la característica principal del análogo de insulina modificado lispro = [B28-L-lisina, B29-L-prolina] descrito por la solicitante y conocido en el documento D1 es la ubicación de la lisina en la posición B28, la persona del oficio normalmente versada en la materia se vería motivada a unir el PEG de 20 a 40KDa, tal como se divulga en el documento D3, a la lisina en la posición B28 en el compuesto divulgado en el documento D1, y llegaría así objeto de la reivindicación 1 de la presente solicitud, con la una expectativa razonable de conseguir un efecto prolongado. Por lo cual, la solución propuesta por la solicitante se considera obvia y sin altura inventiva.

Puesto que las reivindicaciones dependientes 2 a 6 no mencionan características adicionales, se considera que tales reivindicaciones tampoco tienen nivel inventivo.

La reivindicación 7 consiste en “la composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque adicionalmente comprende un amortiguador TRIS a una concentración en el intervalo de 10m M a 25 mM de TRIS, en donde la composición farmacéutica tiene un pH entre 7.0 y 8.0 y al menos un agente de isotonicidad”.

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D3	D4
Composición farmacéutica que comprende un conjugado insulina LISPRO - PEG	Composición farmacéutica (resumen) Conjugado insulina-PEG (Párr. [0010])	Composición farmacéutica (resumen) Insulina LISPRO (Párr. [0016])
TRIS a una concentración entre 10 mM a 25mM	TRIS (Párr. [0133])	TRIS a una concentración de 12.3 a 37 mM (Párr. [0011])
Un pH entre 7.0 y 8.0	pH de 7.8 (Párr. [0191])	pH entre 7.0 y 8.0 (Párr. [0063])
al menos un agente de isotonicidad	No menciona	Agente isotónico (resumen)

El documento D3 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 7 porque divulga polipéptidos tales como insulina acoplados a un polietilenglicol (Párr. [0010]), donde PEG está unido a la lisina de la posición 29 de B, y dicho PEG tiene un peso molecular entre 200 y 40000 daltons (Párr. [0284]). Dichos conjugados son útiles en la formulación de composiciones solubles en agua y fisiológicamente activas (Párr. [0010]), donde los excipientes de dichas composiciones corresponden a agentes amortiguadores como Tris, fosfato o borato (Párr. [0140]), y agentes quelatantes como EDTA o zinc (Párr. [0142]).

La diferencia entre la composición definida en la reivindicación 7 y la divulgada en el documento D3 consiste en las concentraciones específicas de TRIS así como la adición de un agente de isototicidad.

El efecto que logra el incluir la concentracidl del agente amortiguador y el agente de isototicidad es que mejora la estabilidad de la composición.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: cómo mejorar la estabilidad de la insulina modificada en las posiciones 28 y 29 en una composición.

Sin embargo, la utilización del amortiguador TRIS para mejorar la estabilidad del dímero modificado en las posiciones 28 y 29, ya está divulgada en el documento D4 que se refiere a una composición que comprende TRIS con un pH entre 7.0 y 8.0 con una concentración entre 12.3 am37 mM (Párr. [0011]) y que incluye un agente de isotonicidad (Parr. [0010]). Por otra parte, el documento D4 divulga además la posibilidad de incluir otros agentes como zinc a una concentración entre 0.07ug/mL a 0.09ug/mL y m-cresol a una concentración de aproximadamente 2.2 mg/mL.

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría las concentraciones de excipientes divulgadas en el documento D4 en la composición divulgada en el documento D3 para llegar así al objeto de la reivindicación 7 de la presente solicitud con expectativa razonable de obtener composiciones estables del análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina]. Por lo cual, la solución propuesta por la solicitante se considera obvia y sin altura inventiva.

La reivindicación 8 consiste en “la composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 6, caracterizada porque adicionalmente comprende un amortiguador de fosfato a una concentración en el intervalo de 5m M a 10 mM y en donde la composición farmacéutica tiene un pH entre 7.0 y 7.5 y al menos un agente de isotonicidad”.

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D3	D4
Composición farmacéutica que comprende un conjugado insulina LISPRO - PEG	Composición farmacéutica (resumen) Conjugado insulina-PEG (Párr. [0010])	Composición farmacéutica (resumen) Insulina LISPRO (Párr. [0016])
Fosfato a concentración entre 5mM y 10 mM a un pH entre 7.0 y 7.5	Fosfato (Párr. [0133])	Fosfato con un pH entre 7.3 y 7.5 (Párr. [0064]) y una concentración 1 a 10 mM.(Párr. [0011]).
al menos un agente de isotonicidad	No menciona	Agente isotónico (resumen)

El documento D3 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 7 porque divulga polipéptidos tales como insulina acoplados a un polietilenglicol (Párr. [0010]), donde PEG está unido a la lisina de la posición 29 de B, y dicho PEG tiene un peso molecular entre 200 y 40000 daltons (Párr. [0284]). Dichos conjugados son útiles en la formulación de composiciones solubles en agua y fisiológicamente activas (Párr. [0010]), donde los excipientes de dichas composiciones corresponden a agentes amortiguadores como Tris, fosfato o borato (Párr. [0140]), y agentes quelatantes como EDTA o zinc (Párr. [0142]).

La diferencia entre la composición definida en la reivindicación 8 y la divulgada en el documento D3 consiste en las concentraciones específicas del buffer fosfato así como la adición de un agente de isototicidad.

El efecto que logra el incluir la concentración del agente amortiguador y el agente de isototicidad es que mejora la estabilidad de la composición.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: cómo mejorar la estabilidad de la insulina modificada en las posiciones 28 y 29 en una composición.

Sin embargo, la utilización del amortiguador fosfato para mejorar la estabilidad del dímero modificado en las posiciones 28 y 29, ya está divulgada en el documento D4 que se refiere a una composición que comprende fosfato con un pH entre 7.3 y 7.5 con una concentración entre 1 y 10 mM (Párr. [0011]) y que incluye un agente de isotonicidad (Parr. [0010]). Por otra parte, el documento D4 divulga además la posibilidad de incluir otros agentes como zinc a una concentración entre 0.07ug/mL a 0.09ug/mL y m-cresol a una concentración de

aproximadamente 2.2 mg/mL.

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría las concentraciones de excipientes divulgadas en el documento D4 en la composición divulgada en el documento D3 para llegar así al objeto de la reivindicación 8 de la presente solicitud con expectativa razonable de obtener composiciones estables del análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina]. Por lo cual, la solución propuesta por la solicitante se considera obvia y sin altura inventiva.

Puesto que las reivindicaciones dependientes 9 y 10 no mencionan características adicionales, se considera que tales reivindicaciones tampoco tienen nivel inventivo.

La reivindicación 11 consiste en "Un proceso para preparar un compuesto de insulina LISPRO PEGilada de la fórmula: P-[(A)-(B)], o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, caracterizado porque: A es la cadena A de insulina LISPRO (SEC ID NO: 1)...".

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D2	D1
Proceso para obtener insulina LISPRO PEGilada de la fórmula: P-[(A)-(B)]	Proceso para obtener insulina PEGilada (Pdrrafos [0001], [0223])	un análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina] conocido como LISPRO (Fig. 2 Pág. 177)
Hacer reaccionar el grupo epsilon-amino de la lisina en la posición 28 de B con mPEG-NPC que tiene un peso molecular entre 20 kDa y 40 kDa en un solvente acuoso	Hacer reaccionar el grupo 6psilon-amino de la lisina de la cadena A o B (Pág. 31 líneas 1 y 2) con mPEGNPC (Pág. 31 línea 36) que tiene un peso molecular de entre 750 Da y 40000 Da (Pág. 32 líneas 14 a 20) en un solvente acuoso	
pH entre 8,5 y 11,5	pH entre 10.2 y 10.4 (Pág. 39 Ej. 2)	
25°C y 30°C por un periodo de tiempo entre 3 y 6 horas	Temperatura ambiente durante 160 min (Pág. 39 Ej. 2).	

El documento D2 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 11 porque divulga un procedimiento para obtener insulina PEGilada (Párr. [0001], [0223]) que comprende hacer reaccionar el grupo 6psilon-amino de la lisina presente en la cadena A o B de la insulina (Pág. 31 líneas 1 y 2) con mPEG-NPC (Pág. 31 línea 36) que tiene un peso molecular de entre 750 Da y 40000 Da (Pág. 32 líneas 14 a 20) en un solvente acuoso, donde la reacción se ajusta a un pH entre 10.2 y 10.4 (Pág. 39 Ej. 2) a temperatura ambiente durante 160 min (Pág. 39 Ej. 2).

La diferencia entre la reivindicación 11 y el procedimiento del documento D2 consiste en que la insulina PEGilada de la presente solicitud es el análogo de insulina modificado [B28-L-lisina, B29-L-prolina] LISPRO mientras el documento D2 se refiere a la PEGilación de cualquier lisina en la cadena A o B de la insulina nativa.

El efecto que dicha diferencia confiere a la invención es que se consigue un procedimiento de PEGilación específico para la insulina LISPRO.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: cómo diseñar un procedimiento específico para PEGilar una insulina LISPRO.

Sin embargo, el análogo de insulina modificado lispro equivalente a [B28-L-lisina, B29-L-prolina] ya había sido divulgado previamente en el documento D1, el cual da a conocer una insulina modificada que consiste en una cadena A idéntica a la SEQ ID NO: 1 de la presente solicitud y una cadena B idéntica a la SEQ ID NO: 3 de la presente solicitud en la que A y B contienen un enlace disulfuro entre la cisteína en la posición 7 de la cadena A y la cisteína en

la posición 7 de la cadena B, entre la cisteína en la posición 20 de la cadena A y la cisteína en la posición 19 de la cadena B y entre la cisteína en la posición 6 de la cadena A y la cisteína en la posición 11 de la cadena A (Pág. 177, Figura 2), donde la característica principal de dicho compuesto es el intercambio de la lisina de la posición 29 con la prolina de la posición 28, de manera que la lisina se encuentra en la posición 28 (Pág. 177, Figura 2).

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, seleccionaría la insulina LISPRO conocida en el documento D1 y llevaría a cabo el proceso de PEGilación divulgado en el documento D2 para llegar así al objeto de la reivindicación 11 de la solicitud. Por lo cual, la solución propuesta se considera obvia y sin altura inventiva.

Puesto que las reivindicaciones dependientes 12 a 15 no mencionan características adicionales, se considera que tales reivindicaciones tampoco tienen nivel inventivo.

9. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	Holleman & Hoekstra 1997	1 – 6, 11 – 15	Nivel inventivo
D2	WO2008015099	11 - 15	Nivel inventivo
D3	US6890518	1 – 10	Nivel inventivo
D4	US2001031726	7 - 10	Nivel inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir del día siguiente de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Se invita al solicitante se sirva indicar, si así lo considera, su renuncia al término faltante de sesenta (60) días para dar respuesta a este requerimiento y presentarla por escrito.

Finalmente, se le recuerda al solicitante que si como respuesta a este requerimiento llegara a modificar el capítulo reivindicatorio y éste contenga más de diez (10) reivindicaciones, no pagará la tasa de modificación voluntaria pero sí la correspondiente al pago por reivindicación adicional.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.



JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 2014-10-14

Elaboró: Edna Carolina Bonilla Leon

Revisó: Consuelo Leguizamon Leguizamon

Review Article

*Drug Therapy*ALASTAIR J.J. WOOD, M.D., *Editor***INSULIN LISPRO**FRITS HOLLEMAN, M.D.,
AND JOOST B.L. HOEKSTRA, M.D., Ph.D.

THE difference in amino acid composition between beef and porcine insulins and human insulin was long thought to be responsible for the immunogenicity of these animal insulins in humans. As a result, much of the effort expended to meet the world's increasing demand for insulin was devoted to the development of synthetic human insulin. However, the introduction of highly purified synthetic human insulin in the early 1980s did not entirely solve the problem of immunogenicity, and the new technology was used instead to change the amino acid structure of human insulin to make it more suitable for subcutaneous administration. This led to the development of insulin analogues with pharmacokinetic characteristics that differed from those of regular human insulin. The first of these analogues to become available was insulin lispro, which was approved for clinical use in Europe in April 1996 and in the United States in June 1996. In this review we discuss the pharmacologic and clinical data on insulin lispro and its role in the treatment of patients with diabetes mellitus.

THE IMPERFECTIONS OF INTENSIVE INSULIN THERAPY

The results of several clinical trials, such as the Stockholm Diabetes Intervention Study and the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT), have demonstrated that strict glycemic control in patients with insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) reduces the risk of complications such as retinopathy and nephropathy.^{1,2} In these studies control was usually achieved by continuous subcutane-

ous insulin infusion or by multiple daily subcutaneous doses of insulin.

In the regimen involving multiple daily doses, one or more subcutaneous doses of intermediate (isophane) or long-acting (zinc) insulin are combined with doses of regular insulin before each meal in an attempt to mimic physiologic insulin secretion.³ However, for several reasons, this regimen fails to achieve the intended effect. First, although intravenously administered regular insulin reaches peak serum concentrations in just a few minutes, the action of subcutaneously administered regular insulin reaches a maximum about two hours after injection, making it necessary to inject the insulin at least half an hour before the meal to limit the meal-related increase in serum glucose concentrations.^{4,5}

Second, the action of intravenously injected regular insulin lasts less than an hour, whereas that of subcutaneously injected insulin lasts several hours, which may lead to postprandial hyperinsulinemia and consequent hypoglycemia.⁶⁻⁸ Third, the subcutaneous route of administration results in higher peripheral serum insulin concentrations than does insulin secreted into the portal vein. Finally, when injected once daily, the intermediate and long-acting insulins do not provide an appropriate 24-hour basal serum insulin concentration.⁸ These problems are reflected in the fact that even in the DCCT the glycosylated hemoglobin values in most of the intensively treated patients were not within the normal range, whereas the incidence of severe hypoglycemia in this group was three times higher than that in the conventionally treated patients.^{2,9}

DEVELOPMENT OF INSULIN ANALOGUES

The problems described above have given impetus to efforts to find alternatives to regular insulin for injections before meals. Regular human insulin molecules form dimers in solution, and in the presence of zinc atoms these dimers associate to form hexamers (Fig. 1). Although insulin monomers and dimers diffuse rapidly from the subcutaneous space into the circulation, the size of the hexamers limits their diffusion. Thus, both the rather slow onset of action and the prolonged duration of action of subcutaneously injected regular insulin can be attributed to the tendency of molecules of regular insulin to associate.¹⁰

After synthetic human insulin was introduced, the amino acid structure of human insulin was modified to produce insulin analogues that remain monomeric or dimeric in solution.¹¹ Some of these analogues were tested clinically and were indeed ab-

From the Department of Internal Medicine, Diaconessenhuis, Bosboomstraat 1, 3582 KE Utrecht, the Netherlands, where reprint requests should be addressed to Dr. Holleman.

©1997, Massachusetts Medical Society.

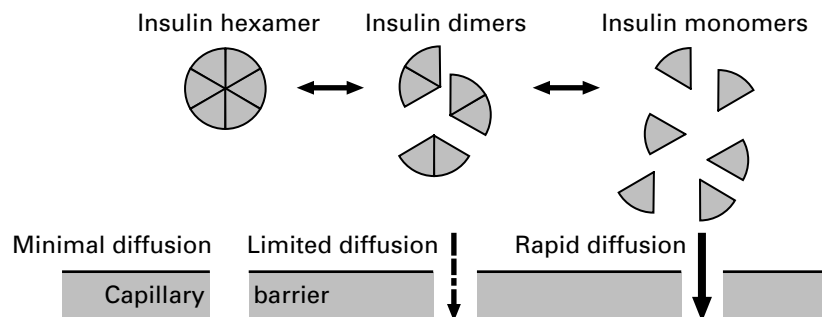


Figure 1. The Diffusion of Insulin.

Insulin molecules form dimers and hexamers in solution. The diffusion of the hexamers is limited by their size; dimers and monomers diffuse more rapidly.¹⁰

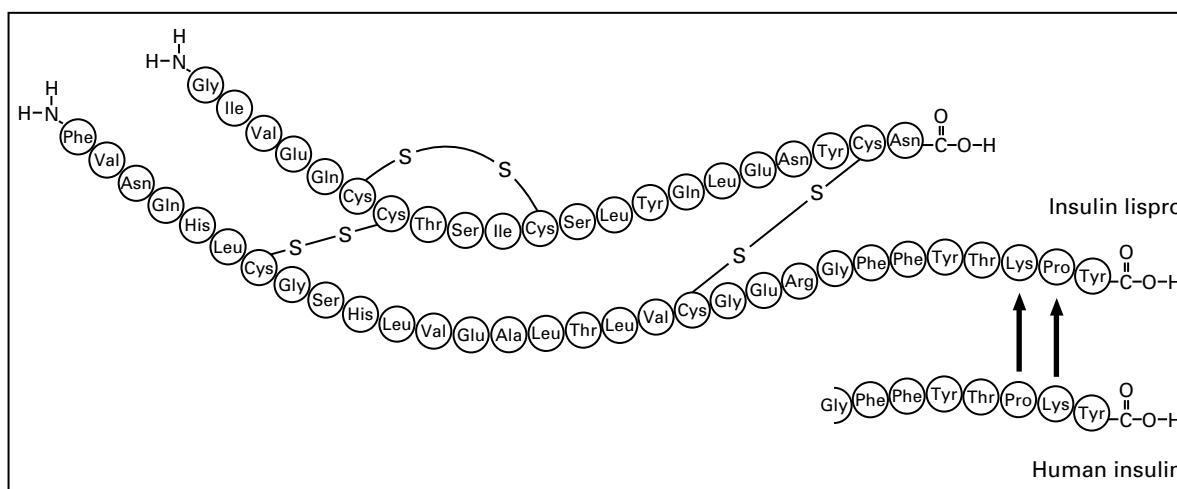


Figure 2. The Amino Acid Sequence of Insulin Lispro.

In insulin lispro (shown in full) the positions of proline at B28 and lysine at B29 at the C-terminal end of the B chain are reversed in comparison with human insulin (only C-terminal end shown).

sorbed more rapidly after subcutaneous injection than regular human insulin.¹²⁻¹⁵ However, most of the changes in the amino acid structure also altered biologic properties.¹⁶ For example, the analogue Asp^{B10} was found to have a carcinogenic effect that was subsequently attributed to an increased affinity of the analogue for the receptors of insulin-like growth factor I or a decreased rate of dissociation of the analogue from the insulin receptor, and clinical studies were halted.¹⁷⁻²⁰

STRUCTURE OF INSULIN LISPRO

It was the structural homology of insulin with insulin-like growth factor I that led to the development of insulin lispro. Insulin-like growth factor I,

although structurally similar to insulin, has little tendency to self-associate²¹ as a result of differences between the amino acid composition of the C-terminal end of its B chain and that of insulin.²²⁻²⁴ Several analogues based on amino acid substitutions in this region have been made. In insulin lispro (Lys^{B28},Pro^{B29} human insulin) the natural sequence of proline at position B28 and lysine at position B29 is reversed (Fig. 2). This reversal leads to a conformational shift in the C-terminal end of the B chain that sterically hinders the ability of the insulin monomers to form dimers. Thus, the dimer association constant is reduced by a factor of 300 as compared with that of regular insulin. The monomeric nature of insulin lispro at physiologic concentrations was

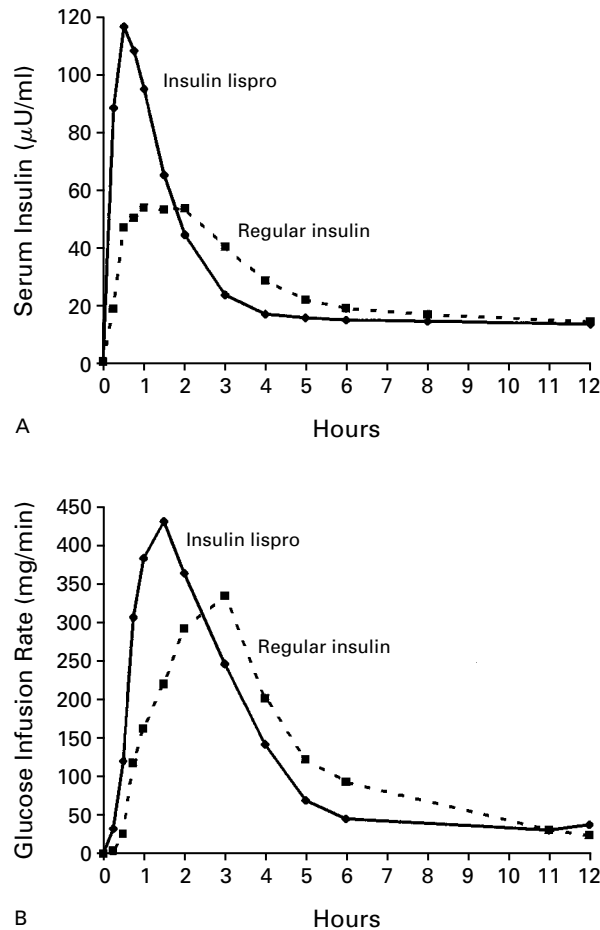


Figure 3. Effects of Subcutaneous Administration of Insulin Lispro and Regular Insulin on Serum Insulin Concentrations (Panel A) and the Rate of Glucose Infusion Necessary to Maintain Normoglycemia (Panel B) in 10 Normal Subjects.

To convert values for insulin to picomoles per liter, multiply by 6.0; to convert values for the glucose infusion rate to millimoles per minute, multiply by 0.005551. Data were adapted from Howey et al.³⁴

established by size-exclusion chromatography, circular dichroism studies, and ultracentrifugation.²⁵

BIOLOGIC ACTIONS OF INSULIN LISPRO

The reversal in the sequence of proline and lysine and the resulting conformational change do not affect the receptor-binding domain of the insulin molecule. The affinity of insulin lispro for the insulin receptor is similar to that of regular insulin.^{26,27} The affinity of insulin lispro for the receptor of insulin-like growth factor I is about 1½ times that of regular insulin, but only 0.1 percent of the affinity of the growth factor itself.^{26,27} Accordingly, *in vitro*, cell growth is stimulated to the same extent by regular insulin and insulin lispro.²⁷ Extensive studies in ani-

mals, including a reproductive and developmental study in rats, revealed no adverse events except those related to the hypoglycemic effect of the analogue.²⁸⁻³⁰ Finally, in a study in rhesus monkeys, IgG antibodies to insulin lispro developed in only 1 of 12 animals after immunization with insulin lispro in Freund's adjuvant, and the serum antibody concentrations in this animal were low.³¹

Studies in pigs indicated that subcutaneously injected insulin lispro was more rapidly absorbed into the circulation than regular insulin (90 percent absorption in 100 minutes, as compared with a time of 150 minutes for regular insulin). Insulin sensitivity and serum insulin concentrations were similar to those with regular insulin,³² and the results were similar in rats and dogs.³³

PHARMACOKINETICS OF INSULIN LISPRO

During a euglycemic clamp study in normal subjects, the peak serum insulin concentration was significantly higher (116 vs. 51 μU per milliliter [698 vs. 308 pmol per liter]) and earlier (42 vs. 101 minutes) after the subcutaneous administration of insulin lispro than after regular insulin (Fig. 3A).³⁴ The rates of glucose infusion needed to maintain euglycemia followed a similar pattern (Fig. 3B). The total hypoglycemic potency of insulin lispro was equivalent to that of regular insulin, and the systemic clearance rates of both types of insulin were similar. These results were confirmed in patients with IDDM,³⁵⁻³⁷ although in some studies the hypoglycemic potency of insulin lispro was slightly higher than that of regular insulin.^{36,37} The duration of action of insulin lispro (about three hours) is shorter than that of regular insulin (about five hours).³⁸

Many factors influence the absorption of insulin lispro from subcutaneous injection sites, just as they influence the absorption of regular insulin. For example, absorption is faster from the abdominal region than from the deltoid or femoral region,³⁵ and the rate of absorption is increased by heat.³⁹ These effects are, however, less pronounced for insulin lispro than for regular insulin.

The length of time to the peak activity after the subcutaneous injection of insulin lispro is independent of the dose, whereas the time to the peak activity of regular insulin increases with increasing doses.⁴⁰ The latter effect had been attributed to decreased perfusion of the injection site because of compression of capillaries by the increasing volume of injection,⁸ but in the light of these new data it is more likely to be due to the intrinsic properties of the insulins. The intrinsic properties of monomeric insulins may also contribute to the decreased variability in serum insulin concentrations in individual patients after the administration of insulin lispro as compared with regular insulin (9.9 percent vs. 23.8 percent).⁴¹ After intraperitoneal administration, the

TABLE 1. STUDIES COMPARING INSULIN LISPRO AND REGULAR INSULIN GIVEN IN REGIMENS INVOLVING MULTIPLE DAILY DOSES AMONG PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS.*

STUDY	NO. OF PATIENTS AND TYPE OF DIABETES	STUDY DESIGN	DURATION OF TREATMENT	PERCENT DIFFERENCE IN GLYCOSYLATED HEMOGLOBIN VALUES	PERCENT DIFFERENCE IN FREQUENCY OF HYPOGLYCEMIA	DIFFERENCE IN 2-Hr POSTPRANDIAL INCREASE IN GLUCOSE (mg/dl)†	DIFFERENCE IN FASTING GLUCOSE CONCENTRATIONS (mg/dl)‡
Martin and Anderson ⁴⁷	78, IDDM 28, NIDDM	Crossover	3 mo	None -0.3	-3‡	-47 -43	NA
Vignati et al. ⁴⁸	336, IDDM 295, NIDDM	Parallel	1 yr	-0.2 (P=0.17)	None	-20 (P=0.007)	NA
Vignati et al. ⁴⁹ §	167, IDDM	Parallel	1 yr	-0.2 (P=0.03)	None	-50 (P=0.001)	+7 (P=0.50)
Anderson et al. ⁵⁰ §	145, NIDDM	Parallel	1 yr	-0.2 (P=0.69)	-16 (P=0.51)	-25 (P=0.02)	+5 (P=0.53)
Anderson et al. ⁵¹	1008, IDDM	Crossover	3 mo	None	-12 (P=0.001)	-36 (P<0.001)	NA
Brunelle et al. ⁵²	722, NIDDM	Crossover	3 mo	None	-4 (P=0.31)	-29 (P<0.001)	+9 (P=0.002)
Garg et al. ⁵³	37, IDDM	Parallel	1 yr	+0.2	None	-72 (P<0.05)	-2
Pfützner et al. ⁵⁴	104, IDDM	Crossover	3 mo	None	-11 (P=0.008)	-31 (P<0.001)	NA
Schmitt et al. ⁵⁵	199, IDDM	Crossover	3 mo	None	-4	-32 (P<0.001)	+7 (P=0.08)
Rowe et al. ⁴⁶	93¶	Blinded, crossover	3 mo	None	None	-32 (NA)	+13 (P=0.02)

*All differences are the differences between treatment with insulin lispro and treatment with regular insulin. IDDM denotes insulin-dependent diabetes mellitus, NIDDM non-insulin-dependent diabetes mellitus, and NA not available.

†To convert values for glucose to millimoles per liter, multiply by 0.05551.

‡This value refers to both the patients with IDDM and those with NIDDM.

§Data from this study were included in the overall analysis in Vignati et al.⁴⁸

¶The type of diabetes was not clearly specified.

pharmacokinetics of insulin lispro and regular insulin are similar.⁴²

CLINICAL STUDIES OF INSULIN LISPRO

Over 4000 patients with diabetes have received insulin lispro in various studies. Most studies compared insulin lispro with regular insulin in a regimen involving multiple daily doses. As a result of its more rapid onset of action, insulin lispro must be injected just before a meal, whereas regular insulin should be injected at least half an hour before a meal.⁴³⁻⁴⁵ This difference in the time of injection has been the reason that most clinical studies, although randomized, have been open-label. The results from the only published double-blind study were similar to those of the open-label studies.⁴⁶

The results of the randomized studies are summarized in Table 1.⁴⁷⁻⁵⁵ In these studies meal-related increases in glucose concentrations were 20 to 72 mg per deciliter (1 to 4 mmol per liter) lower in the patients using insulin lispro than in those using regular insulin. The fasting glucose concentrations and the glucose concentrations measured before meals tended to be higher during treatment with insulin lispro than during treatment with regular insulin. This pattern can be explained by the low serum insulin concentrations that are the result of the too-short duration of action of the basal insulins (e.g., nighttime insulin isophane) given to all patients. Previously

this shortcoming was masked by the long duration of action of regular insulin. It is therefore not surprising that glycosylated hemoglobin values did not decrease during therapy with insulin lispro.

Interestingly, in a recent sequential study in nine patients with IDDM, the introduction of insulin lispro was not followed by a decrease in glycosylated hemoglobin values, whereas the subsequent introduction of a second dose of insulin isophane was followed by a significant (2 percent) decrease in glycosylated hemoglobin.⁵⁶ Likewise, mixing insulin lispro with small quantities of insulin isophane improves the overall glycemic profile in patients with IDDM.⁵⁷ Body weight increases during intensification of treatment, but not more for insulin lispro than for regular insulin.⁵⁴

In patients with IDDM, the frequency of hypoglycemia is somewhat lower during treatment with insulin lispro than during treatment with regular insulin (Table 1). In the largest crossover study there was a 12 percent decrease in the total number of episodes of hypoglycemia.⁵¹ In a study of patients with well-controlled IDDM (mean base-line glycosylated hemoglobin value, 7.3 percent) the number of severe episodes, as defined by DCCT criteria, was lower in the insulin lispro group (58 vs. 36, P=0.04), but the overall frequency of hypoglycemia in the two groups was similar.⁵⁵

In patients with non-insulin-dependent diabetes

TABLE 2. ADVANTAGES AND DISADVANTAGES OF INSULIN LISPRO THERAPY.***Advantages**

Reduced postprandial increases in blood glucose concentrations⁴⁶⁻⁵⁵
 Reduced frequency of hypoglycemia in patients with IDDM^{49,51,54,55}
 Greater convenience for patients in terms of the interval between injections and meals^{5,54,55,69,70}

Potential advantages

Improved glycemic control in patients receiving continuous subcutaneous infusion⁵⁹
 Decreased variability in serum insulin concentrations in individual patients⁴¹
 Treatment of antibody-mediated resistance to regular human insulin⁷⁶⁻⁷⁸
 More physiologic serum insulin profile^{34-36,57}

Potential disadvantages

Low basal serum insulin concentrations
 More rapid onset of ketoacidosis in the case of pump failure in patients receiving continuous subcutaneous infusion⁶⁰
 Unknown teratogenicity and long-term safety profile
 Higher cost

*IDDM denotes insulin-dependent diabetes mellitus.

mellitus, the frequency of hypoglycemia is not altered by insulin lispro. One study suggested that a reduction in the rate of hypoglycemia might be achieved in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus who were at high risk of hypoglycemia,⁵⁸ but these results have not been confirmed.

A few studies have evaluated insulin lispro in other insulin regimens. The initial results in patients treated by a continuous subcutaneous infusion of insulin are promising. In a double-blind crossover study in 30 patients with IDDM, the glycosylated hemoglobin values (7.7 percent vs. 8.0 percent, $P=0.004$) and postprandial increases in serum glucose were lower during treatment with insulin lispro than during treatment with regular insulin.⁵⁹ The frequency of hypoglycemia was similar during the two treatments. The glucose concentrations measured before breakfast and in the evening were lower during insulin lispro treatment, once more underlining the importance of maintaining normal basal serum insulin concentrations — for example, by a continuous subcutaneous infusion.

A disadvantage of insulin lispro in patients who are receiving a continuous subcutaneous insulin infusion may be the more rapid onset of ketoacidosis (four hours, as compared with six hours with regular insulin) in the case of pump malfunction.⁶⁰ The extent of the precipitation and degradation of insulin lispro in the infusion system is similar to that of regular insulin.^{60,61} The twice-daily administration of mixtures of insulin lispro and insulin isophane results in a level of glycemic control that is similar to that produced by mixtures of regular insulin and insulin isophane.^{62,63}

Awareness of Hypoglycemia

The introduction of regular human insulin led to suggestions that patients' awareness of hypoglycemia decreased after those who had been receiving porcine insulin began to use human insulin.⁶⁴ Although conclusive evidence to the contrary was ultimately reported,^{65,66} some patients still hesitate to take novel insulins for this reason. Studies of the awareness of hypoglycemia and of counterregulation after the administration of insulin lispro have revealed similar counterregulatory hormone responses, neuroglycopenic symptoms, and autonomic symptoms after the administration of insulin lispro and regular human insulin.^{36,67,68} The earlier onset of hypoglycemia that is the result of the rapid action of insulin lispro may result in an earlier onset of symptoms.

Quality of Life

Due to the open nature of most studies of insulin lispro, the reliability of all quality-of-life data is limited. Nevertheless, in some studies insulin lispro was associated with a significant increase in patients' overall satisfaction with treatment as compared with regular insulin.^{54,55} In particular, patients considered the opportunity to inject insulin lispro immediately before a meal an advantage, and they reported increased flexibility and freedom in daily activities.⁶⁹ In several studies a majority of patients who were receiving regular insulin did not follow instructions to inject the insulin 30 to 60 minutes before eating, thus expressing their preferences for injection just before the meal.^{5,55,70}

Safety and Immunogenicity

No differences have been reported between insulin lispro and regular insulin with respect to the likelihood of allergic reactions, adverse events, and abnormal laboratory values.⁷¹ Pregnancy was an exclusion criterion in all studies, and therefore, no data are available on the use of insulin lispro during pregnancy. The safety of insulin lispro in adolescents is similar to that of regular insulin,⁷² but data on younger children are not available.

The immunogenicity of insulin lispro is similar to that of regular insulin.^{73,74} In patients who had not previously been exposed to insulin, there was a slightly higher frequency of the induction of insulin antibodies in patients using insulin lispro than in those using regular insulin. However, the difference was significant in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus only after six months of treatment; after a year, the percentage of patients with antibodies was similar in the two groups. Specific antibodies against insulin lispro hardly ever develop, and insulin dose requirements have not been affected by antibody formation.⁷⁵ There are several case reports of patients in whom severe antibody-mediated resistance to regular human insulin was successfully treated by switching to insulin lispro.⁷⁶⁻⁷⁸ These

patients did have cross-reacting insulin antibodies, and therefore the underlying mechanism is unclear.

GUIDELINES FOR THE USE OF INSULIN LISPRO

Many factors determine the degree of glycemic control in patients with diabetes. Patient-related factors, such as motivation and knowledge of the disease, are probably more important than the type of insulin or the insulin regimen used. Thus, although insulin lispro has some small advantages over regular insulin, it will not greatly alter glycemic control in most patients with diabetes. The advantages and disadvantages of insulin lispro therapy are summarized in Table 2.

In women of child-bearing age, the paucity of data regarding possible side effects thus far restricts the use of insulin lispro unless adequate contraception is guaranteed. Likewise, data on the safety of insulin lispro in children under 10 years of age have not yet been published.

Insulin lispro therapy probably has no advantage in patients with high glycosylated hemoglobin values because these patients rarely have hypoglycemia and insulin lispro does not improve glycosylated hemoglobin values. These patients benefit more from other interventions, such as intensification of education about their illness, home monitoring of blood glucose concentrations, and the use of pen devices for insulin administration.

In our opinion, several groups of patients may benefit from treatment with insulin lispro. Among them are patients with IDDM and low glycosylated hemoglobin values who have a high risk of hypoglycemia (as was demonstrated in the DCCT^{2,9}). Patients who lead active lives may appreciate the increased flexibility that the shorter action profile of insulin lispro offers. Finally, patients with recent-onset IDDM who have some residual β -cell function to provide basal insulinemia between meals are also good candidates for the use of insulin lispro.⁴⁵

The regimen of choice when one is initiating insulin lispro therapy is one involving multiple daily doses with insulin isophane given in the evening. It may, however, be necessary to inject a second dose of insulin isophane in the morning to preclude insufficient basal serum insulin concentrations and consequent hyperglycemia in the late afternoon and evening (Fig. 4).^{55,56} The initial dose of insulin lispro can be identical to the dose of regular insulin given previously, but slight adjustments in the dose may be necessary.

It is important to instruct patients carefully about the action profile of insulin lispro. In our experience, patients treated with insulin lispro who have blood glucose concentrations of 72 to 90 mg per deciliter (4 to 5 mmol per liter) about three hours after a meal may, because they are accustomed to the action profile of regular insulin, snack unnecessarily for fear of a late hypoglycemic reaction. In patients using in-

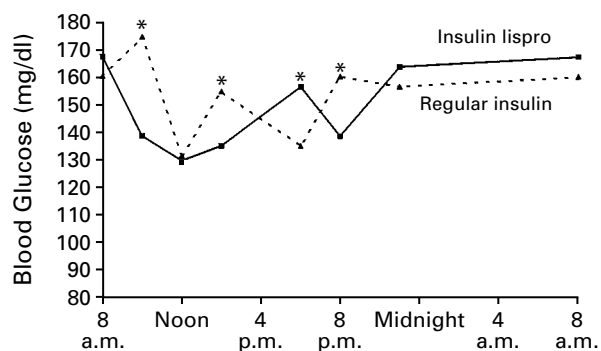


Figure 4. Glycemic Profiles of Regimens Involving Multiple Daily Doses with an Evening Dose of Insulin Isophane and Three Injections of Either Insulin Lispro or Regular Insulin in 189 Patients with Insulin-Dependent Diabetes Mellitus.

Blood glucose concentrations before meals, two hours after meals, and at bedtime were plotted on the basis of mealtimes of 8 a.m., noon, and 6 p.m. Asterisks denote $P < 0.001$ for the comparison between groups. To convert values for glucose to millimoles per liter, multiply by 0.05551.

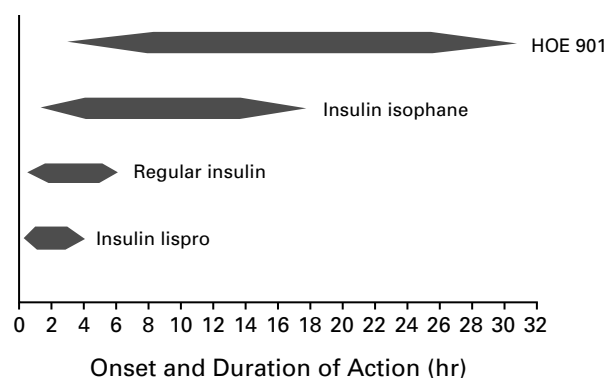


Figure 5. Onset and Duration of Action of Types of Insulin and Insulin Analogues.

HOE 901 is an investigational insulin analogue with a prolonged duration of action.

ulin lispro, exercise shortly after a meal increases the risk of hypoglycemia, whereas in patients using regular insulin, exercise several hours after the meal poses the greater risk.³⁷

FUTURE PROSPECTS

Insulin lispro is currently used mainly in regimens involving multiple daily doses. As discussed earlier, the relatively short duration of action of insulin isophane may be the main reason that the advantages of insulin lispro do not lead to improved glycosylated hemoglobin values. Therefore, the combination of insulin lispro and a really long acting insulin analogue could be useful. The respective action profiles of these types of insulin are shown in Figure 5.

Currently, the insulin analogue HOE 901 (Gly^{A21-}

di-arginyl^{B30}-human insulin, Hoechst) is the most likely candidate to meet these basal insulin requirements, but other basal insulin analogues are being developed.⁷⁹⁻⁸¹ A protamine formulation of insulin lispro with prolonged action (NPL) has been developed.^{82,83} This development opens the way to the use of mixtures of insulin lispro with NPL in regimens involving two daily injections. These mixtures are similar to mixtures of regular insulin and insulin isophane but have a more rapid onset of action, which might in turn diminish the increase in blood glucose concentrations that occurs after breakfast and dinner.⁸⁴

CONCLUSIONS

Insulin lispro is appealing in principle, but the advantages of this drug over regular human insulin thus far seem limited to a slight decrease in the frequency of hypoglycemia, greater convenience in the timing of administration, and possibly, a decrease in glycosylated hemoglobin when the drug is given by continuous subcutaneous infusion. In other regimens glycosylated hemoglobin values are not affected, apparently because lower postprandial glucose concentrations are counterbalanced by higher preprandial and nighttime glucose concentrations. Properly randomized long-term studies with insulin lispro, which carefully examine the frequency of hypoglycemia, glycosylated hemoglobin values, and glycemic profiles, are needed to determine whether increases in basal insulin levels could overcome these problems. Given the available data, a patient should be treated with insulin lispro only after careful consideration of his or her overall situation, because patient-related factors will generally have a greater impact on glycemic control than the type of insulin used.

We are indebted to Dr. D. Willem Erkelens for his valuable suggestions and to Mrs. Beatrix Pentinga-Scheffer for her linguistic advice.

REFERENCES

- Reichard P, Berglund B, Britz A, Cars I, Nilsson BY, Rosenqvist U. Intensified conventional insulin treatment retards the microvascular complications of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM): the Stockholm Diabetes Intervention Study (SDIS) after 5 years. *J Intern Med* 1991;230:101-8.
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:977-86.
- Zinman B. Insulin regimens and strategies for IDDM. *Diabetes Care* 1993;16:Suppl 3:24-8.
- Dimitriadis GD, Gerich JE. Importance of timing of preprandial subcutaneous insulin administration in the management of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1983;6:374-7.
- Lean MEJ, Ng LL, Tennison BR. Interval between insulin injection and eating in relation to blood glucose control in adult diabetics. *BMJ* 1985;290:105-8.
- Home PD, Pickup JC, Keen H, Alberti KGMM, Parsons JA, Binder C. Continuous subcutaneous insulin infusion: comparison of plasma insulin profiles after infusion or bolus injection of the mealtime dose. *Metabolism* 1981;30:439-42.
- Berger M, Cüppers HJ, Hegner H, Jörgens V, Berchtold H. Absorption kinetics and biologic effects of subcutaneously injected insulin preparations. *Diabetes Care* 1982;5:77-91.
- Binder C, Lauritzen T, Faber O, Pramming S. Insulin pharmacokinetics. *Diabetes Care* 1984;7:188-99.
- The DCCT Research Group. Epidemiology of severe hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. *Am J Med* 1991;90:450-9.
- Binder C. A theoretical model for the absorption of soluble insulin. In: Brunetti P, Alberti KGMM, Albisser AM, Hepp KD, Benedetti MM, eds. Artificial systems for insulin delivery. Vol. 6. New York: Raven Press, 1983:53-7.
- Brange J, Ribel U, Hansen JF, et al. Monomeric insulins obtained by protein engineering and their medical implications. *Nature* 1988;333:679-82.
- Vora JP, Owens DR, Dolben J, et al. Recombinant DNA derived monomeric insulin analogue: comparison with soluble human insulin in normal subjects. *BMJ* 1988;297:1236-9.
- Kang S, Creagh FM, Peters JR, Brange J, Vølund A, Owens DR. Comparison of subcutaneous soluble human insulin and insulin analogues (Asp^{B9}, Glu^{B27}, Asp^{B10}, Asp^{B28}) on meal-related plasma glucose excursions in type I diabetic subjects. *Diabetes Care* 1991;14:571-7.
- Kang S, Brange J, Burch A, Vølund A, Owens DR. Subcutaneous insulin absorption explained by insulin's physicochemical properties: evidence from absorption studies of soluble human insulin analogues in humans. *Diabetes Care* 1991;14:942-8.
- Nielsen FS, Jørgensen LN, Ipsen M, Voldsgaard AI, Parving HH. Long-term comparison of human insulin analogue B10Asp and soluble human insulin in IDDM patients on a basal/bolus insulin regimen. *Diabetologia* 1995;38:592-8.
- Vølund A, Brange J, Drejer K, et al. In vitro and in vivo potency of insulin analogues designed for clinical use. *Diabet Med* 1991;8:839-47.
- Jørgensen LN, Dideriksen LH, Drejer K. Carcinogenic effect of the human insulin analogue B10 Asp in female rats. *Diabetologia* 1992;35:Suppl 1:A3. abstract.
- Bornfeldt KE, Gidlöf RA, Wasteson A, Lake M, Skottner A, Arnqvist HJ. Binding and biological effects of insulin, insulin analogues and insulin-like growth factors in rat aortic smooth muscle cells: comparison of maximal growth promoting activities. *Diabetologia* 1991;34:307-13.
- Drejer K. The bioactivity of insulin analogues from in vitro receptor binding to in vivo glucose uptake. *Diabetes Metab Rev* 1992;8:259-85.
- De Meyts P. The structural basis of insulin and insulin-like growth factor-I receptor binding and negative co-operativity, and its relevance to mitogenic versus metabolic signalling. *Diabetologia* 1994;37:Suppl 2:S135-S148.
- DiMarchi RD, Chance RE, Long HB, Shields JE, Sliker LJ. Preparation of an insulin with improved pharmacokinetics relative to human insulin through consideration of structural homology with insulin-like growth factor I. *Horm Res* 1994;41:Suppl 2:93-6.
- Frank BH, Brems DN, Chance RE, DiMarchi RD, Shields JE. Manipulation of the position of proline in the B-chain produces monomeric insulins. *Diabetes* 1991;40:Suppl 1:423A. abstract.
- Long HB, Baker JC, Belagaje RM, et al. Human insulin analogs with rapid onset and short duration of action. In: Smith JA, Rivier JE, eds. Peptides: chemistry and biology: proceedings of the Twelfth American Peptide Symposium. Leiden, the Netherlands: ESCOM, 1992:88-90.
- Shoelson SE, Lu ZX, Parlautean L, Lynch CS, Weiss MA. Mutations at the dimer, hexamer, and receptor-binding surfaces of insulin independently affect insulin-insulin and insulin-receptor interactions. *Biochemistry* 1992;31:1757-67.
- Brems DN, Alter LA, Beckage MJ, et al. Altering the association properties of insulin by amino acid replacement. *Protein Eng* 1992;5:527-33.
- Sliker LJ, Sundell K. Modifications in the 28-29 position of the insulin B-chain alter binding to the IGF-I receptor with minimal effect on insulin receptor binding. *Diabetes* 1991;40:Suppl 1:168A. abstract.
- Sliker LJ, Brooke GS, Chance RE, et al. Insulin and IGF-I analogs: novel approaches to improved insulin pharmacokinetics. In: LeRoith D, Raizada MK, eds. Current directions in insulin-like growth factor research. Vol. 343 of Advances in experimental medicine and biology. New York: Plenum Press, 1994:25-32.
- Zimmermann J. A 12-month chronic toxicity study of LY275585 (human insulin analog) administered subcutaneously to Fischer 344 rats. *Diabetes* 1994;43:Suppl 1:166A. abstract.
- Buelke-Sam J, Byrd RA, Hoyt JA, Zimmermann JL. A reproductive and developmental toxicity study in CD rats of LY275585, [Lys(B28),Pro(B29)]-human insulin. *J Am Coll Toxicol* 1994;13:247-60.
- Helton DR, Zimmermann JL, Heim A, Jones TW, Turk JA, Kallman MJ. General pharmacology of insulin lispro in animals. *Arzneimittelforschung* 1996;46:91-7.
- Zwickl CM, Smith HW, Zimmermann JL, Wierda D. Immunogenicity of biosynthetic human LysPro insulin compared to native-sequence human and purified porcine insulins in rhesus monkeys immunized over a 6-week period. *Arzneimittelforschung* 1995;45:524-8.
- Radziuk J, Davies J, Pye S, DiMarchi R, Shields J, Chance R. Subcu-

- taneous absorption of fast-acting insulin analogs: kinetics and bioeffectiveness. *Diabetologia* 1992;35:Suppl 1:A3. abstract.
33. Shaw WN, Su KSE. Biological aspects of a new human insulin analog: [Lys(B28),Pro(B29)]-human insulin. *Diabetes* 1991;40:Suppl 1:464A. abstract.
34. Howey DC, Bowsher RR, Brunelle RL, Woodworth JR. [Lys(B28),Pro(B29)]-human insulin: a rapidly absorbed analogue of human insulin. *Diabetes* 1994;43:396-402.
35. ter Braak EWMT, Woodworth JR, Bianchi R, et al. Injection site effects on the pharmacokinetics and glucodynamics of insulin lispro and regular insulin. *Diabetes Care* 1996;19:1437-40.
36. Torlone E, Fanelli C, Rambotti AM, et al. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and glucose counterregulation following subcutaneous injection of the monomeric insulin analogue [Lys(B28),Pro(B29)] in IDDM. *Diabetologia* 1994;37:713-20.
37. Tuominen JA, Karonen SL, Melamies L, Bolli G, Koivisto VA. Exercise-induced hypoglycaemia in IDDM patients treated with a short-acting insulin analogue. *Diabetologia* 1995;38:106-11.
38. Holleman F, van den Brand JGG, Hoven RARA, et al. Comparison of Lys^{B28}, Pro^{B29}-human insulin analog and regular human insulin in the correction of incidental hyperglycemia. *Diabetes Care* 1996;19:1426-9.
39. Pöyry K, Kostamo E, Karonen S-L. The effect of Finnish sauna on the absorption of short-acting insulin analogue. *Diabetes* 1995;44:Suppl 1:106A. abstract.
40. Woodworth J, Howey D, Bowsher R, Lutz S, Santa P, Brady P. [Lys(B28),Pro(B29)] human insulin (K): dose-ranging vs. Humulin R (H). *Diabetes* 1993;42:Suppl 1:54A. abstract.
41. Antsiferov M, Woodworth JR, Mayorov A, Ristic S, Dedov I. Within patient variability in postprandial glucose excursion with lispro insulin analog compared with regular insulin. *Diabetologia* 1995;38:Suppl 1:A190. abstract.
42. Torri M, Scavini M, Dozio N, Petrella G, Galimberti G, Pozza G. Pharmacokinetics of insulin analogue Lys(B28)Pro(B29) following intraperitoneal administration. *Diabetes* 1995;44:Suppl 1:130A. abstract.
43. Howey DC, Bowsher RR, Brunelle RL, et al. [Lys(B28),Pro(B29)]-human insulin: effect of injection time on postprandial glycemia. *Clin Pharmacol Ther* 1995;58:459-69.
44. Heinemann L, Heise T, Wahl LC, et al. Prandial glycaemia after a carbohydrate-rich meal in type I diabetic patients: using the rapid acting insulin analogue [Lys(B28),Pro(B29)] human insulin. *Diabet Med* 1996;13:625-9.
45. Pampanelli S, Torlone E, Lalli C, et al. Improved postprandial metabolic control after subcutaneous injection of a short-acting insulin analog in IDDM of short duration with residual pancreatic β -cell function. *Diabetes Care* 1995;18:1452-9.
46. Rowe R, Anderson JH, Gale E. A double-blind comparison of insulin lispro and regular insulin in patients on a multiple injection regimen. *Diabetes* 1996;45:Suppl 2:71A. abstract.
47. Martin JM, Anderson DM. A short-acting insulin analogue in clinical practice. *Diabet Med* 1994;11:Suppl 1:S35. abstract.
48. Vignati L, Anderson J, Brunelle R. Efficacy of [Lys(B28),Pro(B29)] human insulin in a one year global randomized clinical trial. *Diabetes* 1994;43:Suppl 1:78A. abstract.
49. Vignati L, Anderson JH, Brunelle RL, Jefferson FL, Richardson M. Improvement of glycemic control with the rapidly absorbed lispro insulin analog in type I diabetes. *Diabetologia* 1994;37:Suppl 1:A78. abstract.
50. Anderson JH, Vignati L, Brunelle RL, Boggs B. Therapy of type II diabetes with insulin lispro, a rapidly absorbed insulin analog. *Diabetologia* 1994;37:Suppl 1:A169. abstract.
51. Anderson JH Jr, Brunelle RL, Koivisto VA, et al. Reduction of postprandial hyperglycemia and frequency of hypoglycemia in IDDM patients on insulin-analog treatment. *Diabetes* 1997;46:265-70.
52. Brunelle RL, Anderson JH, Vignati L. Insulin lispro improves postprandial control in a large crossover study in patients with type II diabetes. *Diabetologia* 1995;38:Suppl 1:A3. abstract.
53. Garg SK, Carmain JA, Braddy KC, et al. Pre-meal insulin analogue insulin lispro vs Humulin R insulin treatment in young subjects with type I diabetes. *Diabet Med* 1996;13:47-52.
54. Pfützner A, Küstner E, Forst T, et al. Intensive insulin therapy with insulin lispro in patients with type I diabetes reduces the frequency of hypoglycemic episodes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1996;104:25-30.
55. Schmitt H, Symanowski SM, Holleman F, Rees A, Rottiers R, Anderson JH. Comparison of pre-meal therapy with insulin lispro and regular insulin in patients with IDDM. *Diabetologia* 1996;39:Suppl 1:A221. abstract.
56. Karşidag K, Satman I, Dinççag N, Altuntaş Y, Karadeniz S, Yilmaz MT. Comparison of metabolic control in IDDM with two different intensive regimens of [Lys(B28),Pro(B29)]-human insulin (lispro) plus NPH insulin. *Diabetologia* 1996;39:Suppl 1:A222. abstract.
57. Torlone E, Pampanelli S, Lalli C, et al. Effects of short-acting insulin analog [Lys(B28),Pro(B29)] on postprandial blood glucose control in IDDM. *Diabetes Care* 1996;19:945-52.
58. Bastry EJ III, Kotsanos J, Vignati L, Cox D. Insulin lispro (LP) reduces hypoglycemia rate in persons with type II diabetes at high risk for hypoglycemia. *Diabetes* 1996;45:Suppl 2:56A. abstract.
59. Zinman B, Tildesley H, Chiasson JL, Tsui E, Strack TR. Insulin lispro in CSII: results of a double-blind cross-over study. *Diabetes* 1997;46:440-3.
60. Pein M, Hinselmann C, Pfützner A, Dreyer M. Catheter disconnection in type I diabetic patients treated with CSII: comparison of insulin lispro and human regular insulin. *Diabetologia* 1996;39:Suppl 1:A223. abstract.
61. Loughheed WD, Zinman B, Strack TR, Frank BH. Chemical stability of insulin lispro in insulin infusion systems. *Diabetes* 1996;45:Suppl 2:198A. abstract.
62. Pieber TR, Feinböck C, Rabensteiner D, Weitgasser R, Ristic S. Lispro insulin analog in twice-a-day insulin treatment. *Diabetologia* 1995;38:Suppl 1:A3. abstract.
63. Vignati L, Anderson JH, Szawst S, Symanowski S. Twice daily lispro results in less glucose variability compared to human regular insulin. *Diabetologia* 1995;38:Suppl 1:A191. abstract.
64. Gerich JE. Unawareness of hypoglycaemia and human insulin. *BMJ* 1992;305:324-5.
65. Veneman TF, van Haeften TW. Hypoglycaemia unawareness in insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 1994;24:785-93.
66. Maran A, Lomas J, Archibald H, Macdonald IA, Gale EA, Amiel SA. Double blind clinical and laboratory study of hypoglycaemia with human and porcine insulin in diabetic patients reporting hypoglycaemia unawareness after transferring to human insulin. *BMJ* 1993;306:167-71.
67. Jacobs MAJM, Salobir B, Aarsen M, van Iperen A, Heine RJ. Hypoglycaemic thresholds for the glucose counterregulatory responses to Lys(B28)Pro(B29) human insulin analog. *Horm Metab Res* 1994;26:Suppl:A34. abstract.
68. Tsui E, Chiasson JL, Tildesley H, et al. The use of lispro insulin in subcutaneous insulin pumps: counterregulatory hormone responses. *Diabetologia* 1996;39:Suppl 1:A223. abstract.
69. Desmet M, Rutters A, Schmitt H, Satter E. [Lys (B28), Pro (B29)] human insulin (LysPro): patients treated with LysPro vs human regular insulin — quality of life assessment (QOL). *Diabetes* 1994;43:Suppl 1:167A. abstract.
70. Jørgensen LN, Nielsen FS. Timing of pre-meal insulins in diabetic patients on a multiple daily injection regimen: a questionnaire study. *Diabetologia* 1990;33:Suppl:A116. abstract.
71. Anderson J, Symanowski S, Brunelle R. Safety of [Lys(B28),Pro(B29)] human insulin analog in long-term clinical trials. *Diabetes* 1994;43:Suppl 1:61A. abstract.
72. Pfützner A, Gudat U, Trautmann ME, Holcombe J. Use of insulin lispro in pediatric patients with IDDM. *Diabetologia* 1996;39:Suppl 1:A222. abstract.
73. Fineberg NS, Fineberg SE, Anderson JH, Birkett MA, Gibson RG, Hufferd S. Immunologic effects of insulin lispro [Lys (B28), Pro (B29) human insulin] in IDDM and NIDDM patients previously treated with insulin. *Diabetes* 1996;45:1750-4.
74. Fineberg SE, Fineberg NS, Anderson JH, Birkett M. Insulin immune response to lyspro human insulin therapy in insulin naive type I and type II patients. *Diabetologia* 1995;38:Suppl 1:A4. abstract.
75. Roach P, Varshavsky JA, Gantner K, Anderson JH. Insulin antibody formation during treatment with human insulin or insulin lispro does not affect insulin dose requirements. *Diabetes* 1996;45:Suppl 2:261A. abstract.
76. Lahtela JT, Knip M, Paul R, Anttonen J, Salmi J. Severe antibody-mediated human insulin resistance: successful treatment with the insulin analog lispro: a case report. *Diabetes Care* 1997;20:71-3.
77. Henrichs HR, Unger H, Trautmann ME, Pfützner A. Severe insulin resistance treated with insulin lispro. *Lancet* 1996;348:1248.
78. Braimon J, O'Brien M, Kaulbach H, Moses A. The insulin analog lispro effectively treats anti-insulin antibody mediated insulin resistance. *Diabetes* 1996;45:Suppl 2:185A. abstract.
79. Coates PA, Mukherjee S, Luzio S, et al. Pharmacokinetics of a 'long-acting' human insulin analogue (HOE901) in healthy subjects. *Diabetes* 1995;44:Suppl 1:130A. abstract.
80. Markussen J, Havelund S, Kurtzhals P, et al. Soluble, fatty acid acylated insulins bind to albumin and show protracted action in pigs. *Diabetologia* 1996;39:281-8.
81. Myers S, Yakubu-Madus F, Johnson W, et al. W99-S32: a soluble, basal insulin analog. *Diabetologia* 1995;38:Suppl 1:A4. abstract.
82. Defelippis MR, Bakaysa DL, Youngman KM, Radziuk J, Frank BH. Preparation and characterization of neutral protamine lispro (NPL) suspension. *Diabetes* 1996;45:Suppl 2:74A. abstract.
83. Radziuk J, Bradley B, Welsh L, Defelippis MR, Roach P. Profiles of biological activity after subcutaneous administration of mixtures of Lys^{B28}-Pro^{B29} human insulin (lispro) in soluble and neutral protamine formulations. *Diabetes* 1996;45:Suppl 2:218A. abstract.
84. Radziuk JR, Bradley B, Welsh L, De Felippis MR, Roach P. Neutral protamine lispro: activity profile of s.c. administration with and without admixture of soluble lispro. *Diabetologia* 1996;39:Suppl 1:A224. abstract.