

# Si l'ère des insulines synthétiques et biosynthétiques nous était contée

L. Monnier<sup>1</sup>, C. Colette<sup>1</sup>, D. Owens<sup>2</sup>

1. Institut Universitaire de Recherche Clinique. Université de Montpellier (France)

2. Diabetes Research Group. Swansea University (United Kingdom)

Adresse pour la correspondance : Professeur Louis Monnier. Institut Universitaire de Recherche Clinique, 341, Avenue du Doyen Giraud, 34093 Montpellier cedex 5, France

E-mail : [louis.monnier@inserm.fr](mailto:louis.monnier@inserm.fr)

Titre en Anglais : Should the era of synthetic and biosynthetic insulins was told to us

## Résumé

Cette revue est consacrée à l'histoire des insulines synthétiques et biosynthétiques. Plutôt que de rester dans le cadre purement descriptif de la chronologie historique de leur développement au cours des 40 dernières années, nous avons élargi notre démarche en faisant une analyse plus approfondie des découvertes fondamentales qui ont mené à nos avancées technologiques les plus marquantes dans ce domaine.. L'insuline est une hormone peptidique formée par 2 chaînes d'acides aminés (A et B) reliées par 2 ponts disulfures avec un pont disulfure supplémentaire à l'intérieur de la chaîne A. Tous les acides aminés (des résidus cystéines) impliqués dans les ponts disulfures et quelques autres comme ceux qui sont situés entre B25 et B26 sont cruciaux pour le maintien de l'activité insulinique. Pour cette raison, toute modification dans la structure de l'insuline doit être soigneusement analysée pour éviter des effets néfastes quand certains acides aminés sont remplacés par d'autres. En revanche, des effets bénéfiques peuvent être obtenus après des modifications ciblées : a) en position B28-B29 pour réduire l'autoassociation des unités insuliniques et pour produire des analogues rapides ; b) avec addition de 2 résidus arginine à l'extrémité de la chaîne B pour modifier le point isoélectrique des préparations (e.g. la glargine) ; et c) avec insertion d'un acide gras en B29 pour obtenir des insulines acylées, qui se « protractent » dans le tissu cellulaire sous cutané avec une fixation ultérieure sur l'albumine plasmatique. Les deux dernières modifications

sont utilisées pour la production des analogues à action prolongée. Toutes sont obtenues grâce à la technologie de l'ADN recombinant qui fut appliquée pour la première fois dans le domaine de l'insuline dans les années 80-90. Elle a permis la production d'une grande variété de préparations insuliniques destinées à individualiser le traitement des personnes ayant un diabète traité par insuline. Une fois de plus, nous insisterons sur le fait que la compréhension du point de départ (la chimie de l'insuline) pour décrire le point d'arrivée (la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de l'insuline) est la démarche principale que nous avons utilisée tout au long de cette revue.

Mots clés : Insulines humaines, analogues de l'insuline, histoire de la technologie de l'ADN recombinant

## Summary

This review concerns the history of synthetic and biosynthetic insulins. Rather than limiting our objectives to describe the chronological development of insulin preparations during the last past four decades, we have extended our approach to a deeper analysis of the fundamental discoveries that led to the most striking technological advances in this domain.. Insulin is a peptide hormone consisting of 2 chains (A and B) of aminoacids linked by disulfides bonds with an additional intrachain disulfide bridge. All the aminoacids and a few others such as those between B23 and B26 are crucial for maintaining the insulin activity. Consequently, any changes in the insulin structure should be carefully weighed in order to avoid harmful effects that can occur when some aminoacids are substituted for others. In contrast, beneficial effects can be achieved after selected modifications: a) at the B28-B24 positions for reducing the auto-association of insulin units and thus for producing rapid-acting analogues; b) by adding two arginine residues at the C-terminal of the B chain for shifting the isoelectric point (e.g. insulin glargine); and c) by inserting a fatty acid on the B29 residue for obtaining acylated insulins, which are subject to a protraction in the subcutaneous tissue and to a subsequent plasma albumin binding. The two latter changes are used for the production of long-acting insulin analogues. All modifications were obtained using the DNA recombinant technology that began to be applied to the insulin domain during the 1980-1990 decade and that further permitted the production of a wide range of insulin preparations, currently available for individualizing the treatment of insulin-using persons with diabetes. Once again understanding the starting point, i.e. the chemistry of insulin, to describe the end point, i.e. the pharmacokinetics and pharmacodynamics of new insulins, was the main approach used throughout this review.

Key words: Human insulins, insulin analogues, DNA recombinant, technology

L'insuline est une hormone dont la structure est bien connue [1]. Dans sa forme native elle est immédiatement active dans ses nombreux tissus cibles après s'être fixée sur son récepteur spécifique et après l'avoir activé [2]. Quand elle est administrée par voie exogène, l'action de l'insuline est toujours décalée dans le temps. Le décalage dépend de la voie d'administration [3] et des modifications qui ont été appliquées aux préparations insuliniques avant leur injection. Certaines sont des formes commerciales à actions rapides et courtes tandis que d'autres agissent de manière progressive et prolongée [4,5]. Les premières sont destinées à contrôler les montées glycémiques qui suivent les repas et sont regroupées sous le terme d'insulines « prandiales ». Les deuxièmes ont pour objectif de couvrir les besoins insuliniques interprandiaux et l'appellation « insulines basales » leur est habituellement attribuée. C'est dans le cadre de cette dualité complémentaire entre insulines prandiales et basales que les scientifiques ont progressivement développé des préparations insuliniques de plus en plus personnalisées pour s'adapter aux besoins des patients diabétiques. Amorcée dès la mise au point des insulines protaminées par Hagedorn en 1936 [6] cette évolution s'est ensuite poursuivie dans l'ère contemporaine à partir des années 80 quand la technologie de l'ADN recombinant [7,8] a permis d'abord l'obtention d'insulines humaines [9] dont la structure est identique à celle de l'insuline native [10] puis la synthèse d'analogues rapides et lents [4,11,12] ayant des caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacologiques de mieux en mieux définies. C'est cette partie de l'histoire de l'insuline, débutée il y a près de 40 ans, que nous allons conter dans les lignes qui suivent.

## **La chronologie des insulines humaines : des préparations semi-synthétiques vers les formes biosynthétiques**

Bien que les années 80 marquent le début de la « saga » des insulines humaines [9] produites par la technologie de l'ADN recombinant, ces insulines dites biosynthétiques n'avaient pas été les premières insulines humaines à être mises sur le marché, car elles avaient été précédées de quelques années par les insulines humaines semi-synthétiques encore désignées sous le terme d'insulines « humanisées » [13]. Ces dernières étaient obtenues à partir de l'insuline de porc qui ne diffère de l'insuline humaine que par un seul acide aminé situé à l'extrémité carboxyle de la chaîne B, en position B30 : l'alanine sur l'insuline porcine et la thréonine sur l'insuline humaine. Le procédé de transpeptidation enzymatique mis au point par le laboratoire Novo en 1978-1979 [14,15] pour

transformer l'insuline porcine en insuline humaine était un peu besogneux car il fallait d'abord détacher l'alanine de l'insuline de porc en faisant intervenir la trypsine pour la remplacer dans un deuxième temps par la thréonine fournie sous forme estérifiée. Bien que cette technique fût bien maîtrisée avec un excellent rendement (97% d'insuline de porc transformée en insuline humaine) [13], elle présentait l'inconvénient majeur d'utiliser comme substrat de départ une insuline extraite de pancréas de porc. Cette source risquait à terme de se tarir en raison de l'augmentation sans cesse croissante des besoins en insuline à l'échelle mondiale, liée elle-même à l'accroissement du nombre des patients diabétiques insulinés, en particulier de ceux ayant un diabète de type 2 nécessitant un traitement insulinaire. Dans ces conditions, la voie des insulines humaines semi-synthétiques ne pouvait que s'effacer devant celle des insulines biosynthétiques obtenues par la technologie de l'ADN recombinant. Cette dernière voie n'est en principe soumise à aucune limite. En effet les insulines biosynthétiques sont obtenues en transférant les gènes des chaînes A et B de l'insuline dont la séquence nucléotidique est bien connue dans le plasmide d'une cellule bactérienne : un Escherichia Coli en général [7,8,10]. La cellule bactérienne devient l'hôte de l'ADN des chaînes A et B grâce à son ADN plasmidique qui a un triple avantage : a) il est constitué par un substrat d'ADN sur lequel il est relativement aisé d'insérer un fragment d'ADN étranger. b) il se réplique avec l'ADN inséré au même rythme que la multiplication de la cellule hôte et c) il est distinct de l'ADN chromosomique de la bactérie [16] (figure 1). Dans ces conditions, en cultivant les cellules bactériennes il est possible d'obtenir des quantités importantes d'ADN des chaînes A et B. Les chaînes peptidiques A et B synthétisées à partir de leurs ADN respectifs sont ensuite chimiquement converties en dérivés sulfonés pour reconstituer les 2 ponts disulfures qui les réunissent et pour reconstruire la structure finale primaire et tertiaire de l'insuline native [13]. Une voie alternative pour arriver à l'insuline est d'introduire le gène de la proinsuline dans une souche bactérienne d'Escherichia Coli [17]. Après avoir purifié de manière appropriée la proinsuline produite et après avoir reconstitué les ponts disulfures, les molécules de proinsuline produites sont clivées par un procédé enzymatique pour conduire à l'insuline humaine biosynthétique. Quelle que soit la méthode utilisée, il a été démontré que les insulines humaines biosynthétiques ont une immunogénicité beaucoup plus faible et une production d'anticorps anti-insuline de type IgE ou IgG beaucoup moins fréquente lorsqu'elles sont comparées aux insulines animales [17,20,21,22, 23].

## **Le concept des analogues de l'insuline : les relations entre structure et activité**

A partir du moment où la technologie de l'ADN recombinant fut complètement maîtrisée, la voie fut largement ouverte pour la production d'insulines génétiquement modifiées afin d'obtenir des

préparations plus stables et à durée d'action plus prévisible et mieux définie que celle des anciennes insulines. La stabilité peut se décliner sous la forme d'une moindre variabilité d'absorption intra et inter-individuelle après injection de la préparation insulinique par voie sous cutanée. La durée d'action est également une préoccupation fondamentale pour tenter de reproduire le mieux possible la sécrétion insulinique physiologique des personnes exemptes de diabète. Très schématiquement on peut distinguer une sécrétion basale interprandiale relativement constante avec des taux d'insulinémie plasmatique de l'ordre de 10 mU/L (60 pmol/L) et une sécrétion prandiale courte (moins de 3 heures) qui suit le début du repas avec des taux maximum allant de 50 à 60 mU/ml, soit 300 à 360 pmol/L (figure 2) [24]. En traitant des sujets diabétiques de type 1 par un mélange d'insuline régulière (durée d'action de l'ordre de 6 heures ; pic d'activité vers la 2<sup>ème</sup> heure après l'injection [25]) et d'insuline NPH (durée d'action de 12 à 14 heures ; pic d'activité entre la 3<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> heure après l'injection [26]), il est impossible de reproduire un profil insulinique correct [27]. Par voie de conséquence, le profil glycémique est tellement imparfait avec ce type de mélange [27] qu'il serait jugé totalement anachronique et impubliable en 2021, cent ans après la découverte de l'insuline. C'est pour cette raison que les années 85 et toutes celles qui suivirent furent marquées par la recherche d'insulines modifiées dans leur structure afin d'obtenir des analogues permettant la pratique des schémas insuliniques de type basal-bolus, d'abord appliqués aux patients diabétiques de type 1, mais également recommandés dans le diabète de type 2 lorsque ce dernier échappe à l'escalade thérapeutique traditionnelle : Insuline basale plus agonistes des récepteurs du GLP-1 [28]. La chronologie du développement des analogues de l'insuline est décrite sur la figure 3 [5]. Ce furent d'abord les analogues rapides qui virent le jour au cours de la décennie 1985-1995. Leur durée d'action plus courte que celle de l'insuline régulière (3 heures) et leur pic plus précoce (entre la 45<sup>ème</sup> et la 60<sup>ème</sup> minute après l'injection [25]) permettent une meilleure couverture des excursions glycémiques postprandiales [29]. Les analogues rapides furent assez rapidement suivis par le développement des analogues lents/ultralents qui peuvent être listés de la façon suivante par ordre chronologique : a) la glargine U100 (1992-2003) ; b) la détémir (1996-2006) et la dégludec (2010-2013) (figure 3)[5]. Pour clore cette liste, il convient de ne pas oublier les insulines dont la durée d'action se poursuit sur une semaine entière. Ces dernières appelées « insulines hebdomadaires » ne sont pour l'instant qu'au stade d'expertise sans qu'on puisse savoir si elles seront un jour commercialisées. Le dénominateur commun de tous les analogues est une modification de la structure des insulines. Toutefois, modifier la structure des insulines n'est pas une entreprise facile. En effet, les modifications doivent être correctement ciblées sur des zones bien précises. En revanche elles doivent éviter les zones où elles pourraient exercer des effets délétères. Ainsi, rappeler nos connaissances en termes de relation entre structure et activité de l'insuline nous paraît

justifié afin de mieux comprendre le pourquoi et le comment des modifications qui ont conduit aux analogues de l'insuline.

Cette description des différentes zones nécessite un bref rappel sur la structure de l'insuline dont la séquence des acides aminés (structure primaire) fut identifiée au milieu du siècle dernier par Frederik Sanger grâce à une méthode de séquençage protéique. Ses travaux lui valurent de recevoir en 1958 le prix Nobel de chimie, l'un des 2 prix Nobel qui lui furent attribués pour consacrer une exceptionnelle carrière scientifique. L'insuline est constituée de 2 chaînes polypeptidiques A et B qui possèdent respectivement 21 et 30 acides aminés. Ces 2 chaînes sont reliées entre elles par deux ponts disulfures entre les résidus A7-B7 et A20-B19 (figure 4) [1,30]. Ces 4 acides aminés correspondent à 4 résidus cystéine, c'est-à-dire à un acide aminé soufré. Ceci explique que les 2 ponts disulfures soient ancrés sur les positions que nous venons de citer. Avant sa libération dans le torrent circulatoire, l'insuline est enchâssée dans une protéine plus large, la proinsuline. La stabilité de cette protéine est assurée par un peptide de connexion (le peptide C) qui est une séquence de 35 acides aminés dont les 2 extrémités sont liées aux chaînes A et B au niveau des acides aminés situés en A1 et B30. C'est grâce au clivage en plusieurs temps de la proinsuline par des endopeptidases et des décarboxylases que le produit final, c'est-à-dire de l'insuline, est libéré avec ses chaînes A et B correctement configurées [30]. La structure tertiaire spatiale en 3 D qui en résulte avec enroulement des 2 chaînes A et B l'une sur l'autre est indispensable pour que l'insuline se fixe sur son récepteur spécifique et l'active au niveau des organes cibles [1,2]. Cette structure spatiale (figure 4) a été décrite une dizaine d'année après les travaux de Sanger par une biochimiste britannique, Dorothy Crowfoot-Hodgkin grâce à l'utilisation de techniques de radiocristallographie. En 1964, elle reçut le prix Nobel de chimie pour l'ensemble de son œuvre scientifique dédiée à de nombreuses protéines et qui dépasse la description de la structure spatiale de l'insuline.

### ***1) Les zones de modifications « nuisibles » qui conduisent à une inactivation plus ou moins complète de l'insuline ou à des effets délétères***

Plusieurs de ces zones se situent sur la chaîne B en B10, B23, B24, B25 et B26. Les sites en B24, B25 et B26 qui sont occupés par des acides aminés aromatiques (phénylalanine en B24 et 25 et tyrosine en B26) jouent un rôle majeur dans l'interaction insuline-récepteur [31-33]. Certaines modifications diminuent l'action de l'insuline mais d'autres peuvent au contraire l'accroître. A titre d'exemple, le remplacement de la tyrosine en B26 par de la iodotyrosine stabilise l'insuline et accroît son efficacité [34]. De même un exemple d'exacerbation de l'action de l'insuline est donné par un analogue de l'insuline humaine obtenu par substitution de l'histidine en B10 par de l'acide aspartique [34]. Cette modification initialement conçue pour réduire l'auto-association de l'insuline dans laquelle le résidu

B10 est impliqué s'est effectivement avérée efficace pour accroître l'action de l'insuline en augmentant son affinité pour le récepteur de l'insuline en ralentissant la dissociation de la liaison insuline-récepteur [36]. Malheureusement, dans un deuxième temps, les concepteurs de cette insuline désignée sous le qualificatif de X10 notèrent qu'elle avait une affinité trop élevée pour le récepteur de l'IGF-1 («*Insulin Growth Factor-1*») et que son pouvoir mitogène était augmenté [35]. Ce problème est récurrent dès que l'on envisage de concevoir une nouvelle insuline car les récepteurs de l'insuline et de l'IGF1 ont tous les deux une structure tétramérique et appartiennent à la famille des récepteurs de type tyrosine kinase. De plus malgré leur séparation relativement précoce dans l'évolution des vertébrés l'insuline et l'IGF-1 dérivent toutes les deux d'un ancêtre commun. Même si l'affinité de l'insuline humaine pour le récepteur de l'IGF-1 reste faible ( $1/1000^{\text{ème}}$  de celle qu'elle exerce vis-à-vis de son propre récepteur [37]), il n'en reste pas moins que certains analogues de l'insuline peuvent avoir une affinité 7 à 8 fois plus forte pour le récepteur de l'IGF-1 que l'insuline humaine [38]. C'est pour cette raison que l'histoire de l'insuline X10, programmée pour être un analogue rapide s'arrêta de manière prématurée avant tout développement commercial.

Ultérieurement dans cet article nous reviendrons sur les modifications de l'acide aminé B25 qui fait partie des 3 sites modifiés pour obtenir des insulines à action très lente (hebdomadaire) en ralentissant et en prolongeant la liaison de l'insuline sur son récepteur. Parmi les zones cruciales pour l'action de l'insuline il convient de signaler les points d'insertion des 2 ponts disulfures qui relient les chaînes A et B. Ainsi, toute mutation génétique au niveau des 4 acides aminés qui sont directement impliqués dans les ponts disulfures (A7-B7 et A20-B19) peut conduire à leur rupture ou à une désorganisation de la structure spatiale. Ceci conduit à l'inefficacité complète de l'insuline. Les mêmes conséquences peuvent être observées quand il s'agit de modifications au voisinage de l'insertion des ponts disulfures. Ainsi il a été démontré que de mutations génétiques sur les positions A19 et B8 sont responsables de diabètes néonataux avec sécrétion  $\beta$  Langheransienne d'une insuline inefficace [39]. Le pont disulfure interne à la chaîne A entre les résidus cystéine situés en position A6 et A11 conditionne également la stabilité moléculaire de l'insuline et son altération risque de porter atteinte à son activité. Il est à noter que la modification des ponts disulfures inter ou intra-chaîne peuvent modifier la structure spatiale de la proinsuline et par voie de conséquence risquent de compromettre sa libération à partir du réticulum endoplasmique des cellules bêta [40,41]. Cette conséquence ne concerne pas l'insuline produite par la technologie de l'ADN recombinant à partir de l'insertion de la proinsuline dans une bactérie. En effet les ponts disulfures de la proinsuline sont supprimés pour être ensuite reconstitués dans une étape terminale où ils sont reinsérés dans leur position physiologique avant le clivage définitif de la proinsuline avec séparation de l'insuline et du peptide C (figure 1) [42,43,44].

En résumé, les zones à préserver lors de la conception de nouveaux analogues peuvent être regroupées en 2 catégories (figure 5) : celles qui touchent les 3 ponts disulfures, c'est-à-dire principalement les résidus cystéine et celles qui concernent les zones de liaison aux récepteurs. Enfin, il est à noter que l'évolution de la structure des insulines a été fortement conservée dans l'évolution des vertébrés supérieurs. C'est ce qui explique en particulier que les insulines de porc et de bœuf aient été utilisées pendant de nombreuses années pour traiter les patients diabétiques. Comme nous l'avons indiqué plus haut, l'insuline de porc ne diffère de l'insuline humaine qu'au niveau de l'acide aminé en B30 : alanine à la place de la thréonine. Pour l'insuline de bœuf, les différences sont un peu plus marquées mais ne touchent aucune zone essentielle : alanine au lieu de la thréonine en B30 et A8 et valine au lieu de l'isoleucine en A10.

## **2) Les zones de modifications utiles**

Modifier la structure de l'insuline pour éviter l'auto-association de ses unités monomériques a été l'une des préoccupations majeures des scientifiques au cours des années 90 (figure 3)[5] afin d'obtenir des analogues de l'insuline à action rapide [45-48]. Toutes les préparations insuliniques sont stabilisées grâce à une addition de zinc et de composés phénoliques [49]. Malheureusement cette adjonction facilite la transformation des unités monomériques de l'insuline en dimères puis en hexamères, ces derniers se dissociant relativement lentement après injection dans le tissu cellulaire sous cutané avec un pic d'activité à la 2<sup>ème</sup> heure et une durée d'action de l'ordre de 6 heures [25,50]. La transformation des monomères en hexamères est expliquée par le fait que chaque molécule d'insuline a une forte affinité pour sa voisine la plus proche, l'association s'effectuant au niveau des extrémités carboxyl des chaînes B en B30 grâce à des liaisons hydrogènes [11] (figure 6). Quand l'insuline est injectée à sa concentration de 100 U/mL il faut qu'elle subisse une dilution par un facteur 1000 dans le tissu cellulaire sous cutané pour se dissocier en monomères, forme sous laquelle elle se fixe sur son récepteur. En modifiant la partie terminale de la chaîne B, en particulier au niveau des acides aminés situés en positions B28 et B29, on peut réduire les phénomènes d'auto-association pour conduire à des insulines qui se dissocient rapidement après injection et qui donnent naissance à des unités monomériques immédiatement utilisables [45-48]. L'idée de modifier les acides aminés B28 et/ou B29, par exemple en inversant leurs positions pour passer d'une séquence proline en B28 et lysine en B29 dans l'insuline normale à une séquence lysine en B28 et proline en B29 dans la lispro (premier analogue rapide), a été inspirée par les études portant sur la structure de l'IGF-1 [48,51]. Cette dernière hormone n'a aucune tendance à l'auto-association en dépit de son homologie de structure avec l'insuline. Ainsi naquit la lispro, le premier analogue rapide commercialisé dans les années 90 par le laboratoire Lilly sous le nom d'Humalog® [45,46,52]. Suivirent ensuite l'insuline asparte (Novo Rapid®) du laboratoire Novo [53] et l'insuline glulisine du

laboratoire Sanofi (Apidra®) [54,55] obtenues respectivement par remplacement de la proline in position B28 et de la lysine en B29 par de l'acide aspartique et de l'acide glutamique. A quelques nuances près ces 3 insulines rapides ont les mêmes profils d'action et les mêmes propriétés [25,56], même si un travail indique que la glulisine pourrait être un peu plus rapide quand elle est administrée à des sujets obèses [54]. En dehors des modifications concernant la séquence B28-B29 qui intervient dans l'auto-association, d'autres manipulations de la molécule d'insuline ont été réalisées pour obtenir des analogues lents ou ultra lents. Elles seront détaillées un peu plus loin dans cette revue, au moment de la description de leur les profils d'action qui sont actuellement de mieux en mieux connus grâce aux études de pharmacocinétique et de pharmacodynamie.

## **La pharmacocinétique et de la pharmacodynamie des préparations insuliniques : une période clé, les années 80**

De nos jours il est impossible de commercialiser une préparation insulinique sans connaître son profil d'action. Seules les études de pharmacocinétique et de pharmacodynamie, désignées par l'acronyme PK/PD permettent de confirmer ou d'infirmer les propriétés qui avaient été pressenties grâce au travail préalable des chimistes. Les premières tentatives pour évaluer les caractéristiques pharmacodynamiques (PD) des préparations insuliniques furent effectuées par Gerritzen dans les années 50 [57], mais les études pharmacodynamiques ne prirent leur véritable essor qu'avec la technique du clamp euglycémique développé au début des années 80 par DeFronzo et al [58]. Si on se contente d'une approche sommaire, la pharmacocinétique consiste à étudier l'évolution de la concentration insulinique plasmatique après injection d'une préparation insulinique à tester, tandis que la pharmacodynamie évalue le profil du débit de glucose à perfuser pour maintenir la glycémie à la normale après injection de cette même préparation [59]. Bien que les principes paraissent simples, la réalité est beaucoup plus complexe [60-62], ce qui explique les résultats parfois disparates d'une étude à l'autre. C'est ainsi que des résultats contradictoires ont été publiés en comparant la glargine et la dégludec [63,64] : la variabilité intra-journalière a été rapportée plus faible et le profil d'activité plus étalé au cours du temps avec la glargine U300 qu'avec la dégludec dans l'étude de Bailey et al [63] alors que l'inverse a été observé dans l'étude de Heise et al [64]. Ces différences semblent être la conséquence d'un défaut de sensibilité des études pharmacocinétiques et pharmacodynamiques pour tester des différences mineures entre profils d'activité de deux ou plusieurs préparations insuliniques [65]. Après injection par voie cutanée d'une préparation insulinique à tester, on obtient des profils de réponses pharmacocinétique (concentration plasmatique de l'insuline) et pharmacodynamique (débit de glucose pour maintenir la glycémie à la normale: GIR pour *Glucose Infusion Rate*) qui peuvent être représentés par une courbe en dôme avec une phase initiale

ascendante, l'atteinte d'un pic ( $C_{\max}$  ou  $GIR_{\max}$ ) au bout d'un temps donné ( $T_{\max}$ ) suivie d'une phase descendante qui s'arrête lorsque l'action de l'insuline arrive à son terme. C'est ce point d'arrêt qui permet d'évaluer la durée totale de la préparation insulinaire. A partir du pic de concentration et en calculant le temps au bout duquel le  $C_{\max}$  a diminué de moitié ( $C_{\max/2}$ ), il est possible de déterminer la demi-vie de la préparation insulinaire ( $T_{1/2}$ ) (figure 7) [66]. Cette dernière reflète la demi-vie de l'absorption et de la transformation de la préparation insulinaire car cette demi-vie est incomparablement plus longue que celle qui correspond à son élimination lorsqu'elle se trouve sous sa forme libre dans le plasma [66]. A titre d'exemple l'insuline humaine, immédiatement active, a une durée d'élimination de 5 à 10 minutes lorsqu'elle est injectée par voie intraveineuse [67,68]. La demi-vie pharmacocinétique (« visible ») est en fait le reflet des phénomènes de précipitation (glargine), de protraction sous cutanée suivie de liaison à l'albumine plasmatique (insulines acylées) qui précèdent leur libération sous forme libre, c'est-à-dire active, dans le plasma (demi-vie « invisible » et négligeable car trop courte) (figure 8). Toutefois la méthodologie des études de PK/PD fait l'objet de nombreux débats [61,69,70]. Ces études sont en général effectuées chez des diabétiques de type 1, insulinoprivés, pour éviter que la cinétique des courbes ne soit perturbée par une stimulation de la sécrétion endogène de l'insuline au cours du clamp euglycémique quand il est pratiqué chez des sujets normaux [70] ou chez des sujets ayant une sécrétion insulinaire résiduelle comme les personnes ayant un diabète de type 2. Quand le clamp est pratiqué chez des diabétiques insulino-traités, il est indispensable dans la période qui précède de faire un « wash out » du traitement insulinaire en cours pour éviter en début de courbe toute interférence avec l'insuline à tester. Toutefois il est nécessaire d'obtenir une glycémie normale en début d'épreuve, ce qui nécessite d'avoir recours à une administration d'insuline exogène délivrée à faible débit sous forme de perfusion avant l'injection de l'insuline à tester. En fin d'épreuve, la concentration de l'insuline à tester descend à des niveaux très bas, de l'ordre de  $1\mu\text{U/mL}$  en termes d'insuline active après avoir soustrait du taux total de l'insuline mesurée (de l'ordre de  $6\mu\text{U/mL}$ ) la fraction qui est considérée comme la limite inférieure de la quantification (LLOQ ou « Lower Level Of Quantification » =  $5,02\mu\text{U/mL}$ ) [71]. Etant donné que la production hépatique du glucose est fortement libérée dès que l'insulinémie descend en dessous de  $10\mu\text{U/mL}$  [72-75], ceci signifie que cette production s'emballe en fin de clamp. Ce phénomène rend la cinétique de perfusion du glucose (GIR) difficilement interprétable [69]. Ainsi il apparaît que les études de PK/PD sont difficiles à conduire. D'un point de vue pratique, on peut considérer que les données fournies par les études de pharmacodynamie de l'insuline (PD) sont peu fiables quand la durée des clamps dépasse les 24 heures, c'est-à-dire lorsqu'on est amené à tester des insulines ultralentes [5,76] comme la glargine U300 (durée d'action qui peut aller jusqu'à 36 heures [71]) ou la dégludec (durée d'action de l'ordre de 2 à 3 jours [77]). A fortiori ceci est encore plus vrai avec les insulines hebdomadaires comme l'icodec [78].

En dehors des arguments scientifiques, il faut également souligner la difficulté de maintenir un clamp euglycémique sur plus de 24 heures chez un sujet allongé et perfusé, toutes choses qui sont peu compatibles avec son confort. En ce qui concerne la pharmacocinétique (PK) des insulines, elle est conditionnée par la nature et la qualité du dosage de l'insuline plasmatique [79]. En plus de la limite inférieure de quantification (LLOQ) d'autres problèmes doivent être évoqués. Si on prend l'exemple des études de PK avec la glargine, les substances mesurées dans le plasma sont constituées par la glargine intacte pour une petite fraction tandis que la plus grande partie est représentée par ses métabolites M1 et M2 [71,80]. Quand on teste les PK des insulines acylées (détémir, dégludec et icodéc) ce sont uniquement les fractions liées à l'albumine qui sont évaluées car les fractions libres, c'est à dire actives, restent inaccessibles au dosage [81]. Cette dernière constatation explique le pourquoi des taux plasmatiques d'insuline, en apparence « faramineux », qui sont obtenus lorsqu'on étudie la pharmacocinétique des insulines détémir (2000 à 3000 pmol/L [82]), dégludec (4000 à 6000 pmol/L [77]) et icodéc (20000 à 40000 pmol/L [78]). Ces taux sont sans commune mesure avec ceux qui sont en moyenne observés chez les patients diabétiques traités avec des insulines non acylées : 100 à 400 pmol/L en fonction de la dose administrée [82]. En dépit de toutes ces réserves, il n'en reste pas moins que c'est grâce aux études de PK/PD que l'on a pu classer les insulines dans différentes catégories en fonction de leur profil d'action (figure 9) : a) insuline régulière ou ordinaire (durée d'action de l'ordre de 6 heures) ; b) insulines rapides ou ultrarapides (durée d'action de l'ordre de 3 heures ou légèrement inférieure à 3 heures) ; c) insulines semi-lentes : insuline NPH (durée d'action de l'ordre de 12 heures) ; d) insulines lentes : glargine U100 (durée d'action de l'ordre de 24 heures) et insulines ultralentes ou « flat-insulins » (durée d'action supérieure à 24 heures). Il convient de noter que l'insuline détémir s'insère entre les insulines semi-lentes et lentes avec un profil d'action de l'ordre de 14 à 16 heures. Ces durées d'action sont une synthèse des études de PK/PD et ne représentent que des évaluations moyennes. Sur la figure 9, le profil moyen (traits pleins) est encadré par 2 courbes en pointillés qui sont destinées à schématiser la variabilité intra et inter individuelle des préparations insuliniques.

## **Les analogues de l'insuline au cours des deux dernières décennies**

### ***1) Des analogues rapides de l'insuline aux préparations ultrarapides***

Les analogues rapides dont nous avons déjà commenté les concepts et les propriétés ont été développés à la fin du siècle dernier. Qu'il s'agisse de la lispro, de l'asparte ou de la glulisine, leur modes de conception et leurs propriétés sont très voisins [11,45-48,52,53,55]. Bien que ces insulines aient permis de rapprocher les profils pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de l'insuline des incréments glycémiques normalement observés après un repas glucidique, les pics insulinémiques

après injection sous cutanée restent toujours un peu tardifs (entre la 45<sup>ème</sup> et la 60<sup>ème</sup> minute [11,25,28,55,84,85] pour contrôler complètement les montées glycémiques postprandiales. Pour cette raison, certains laboratoires pharmaceutiques ont développé des insulines plus rapides que les rapides avec un pic insulinémique (PK) et un pic d' « activité (PD) se situant aux alentours de la 30<sup>ème</sup> minute ou même légèrement avant avec une durée maximale d'action qui se situe entre 2 et 3 heures. Ainsi ces insulines désignées sous le terme général d'insulines ultrarapides [86-94] ont théoriquement le potentiel d'assurer un meilleur contrôle des pics prandiaux et d'éviter les hypoglycémies qui surviennent entre la 3<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> heure après l'injection. De plus, en raison de la quasi absence de délai entre le début de leur action et le moment de leur injection, elles pourraient être particulièrement intéressantes avant le petit déjeuner quand les sujets présentent un phénomène de l'aube et de l'aube prolongé [95-97] ou avant n'importe quel repas quand il contient trop de glucides, en particulier lorsqu'ils ont une index glycémique élevé. Pour atteindre ces objectifs, plusieurs voies sont été proposées [86,94].

#### a) La voie des hyaluronidases

Elle consiste à ajouter à la préparation insulinique une hyaluronidase destinée à « digérer » le hyaluronan, l'un des composants du collagène du tissu cellulaire sous cutané. Avec sa consistance de gel, il freine la diffusion des médicaments injectés mais sa digestion sous l'influence d'une hyaluronidase facilite théoriquement la diffusion de l'insuline après son injection sous cutanée [87]. Toutefois, cette voie n'ayant pas tenu les promesses qu'elle avait fait naître, elle semble pour l'instant en veilleuse.

#### b) La voie des « biochaperonnes »

Les « chaperonnes » sont des protéines cellulaires qui permettent d'assembler et de plicaturer d'autres protéines (l'insuline par exemple) pour leur conférer leur structure tertiaire tridimensionnelle (figure 4) en les emmitouflant dans une chape protectrice [98] comme le faisaient certaines coiffes utilisées pour protéger les coiffures des françaises vivant au XVI<sup>ème</sup> siècle. Cette coiffe était appelée « chaperon ». Ce terme d'origine française a été repris par les scientifiques pour désigner les protéines qui jouent un rôle dans l'emmitoufflage des autres protéines afin d'assurer et de maintenir leur configuration spatiale idéale et définitive [98]. Le laboratoire Lilly travaille depuis plusieurs années sur un « biochaperonne » de la lispro [86] constitué actuellement par un assemblage d'un oligosaccharide modifié et de molécules naturelles, le tout additionné de citrate. Les résultats des études de PK/PD quand il est comparé aux autres ultra-rapides semblent prometteurs [99] mais seul l'avenir permettra de confirmer ses propriétés : protection, stabilisation de l'insuline et contrôle de sa libération.

### c) la voie des excipients

Ce procédé est utilisé par le laboratoire Novo pour produire l'insuline asparte ultra rapide (Fiasp®) et par le laboratoire Lilly pour fabriquer l'insuline LY900014 qui vient de recevoir très récemment (le 20 novembre 2020) l'autorisation de mise sur le marché français sous le nom commercial de Lyumjev®. Toutes les 2 sont produites en partant d'un analogue rapide (l'asparte pour Novo, la lispro pour Lilly) et en ajoutant un excipient. Pour l'insuline asparte ultra rapide deux excipients sont utilisés : la L-arginine qui sert de stabilisant et la niacinamide (vitamine PP) qui augmente le flux sanguin [100] et par voie de conséquence l'absorption [88-90] au point d'injection. Pour la LY900014, c'est l'adjonction de citrate et de treprostinil qui accélère l'absorption, le premier en augmentant la perméabilité vasculaire, le deuxième en entraînant une vasodilatation locale [101,102]. Ces 2 catégories d'insulines ultra rapides permettent un meilleur contrôle des glycémies postprandiales [91,92,93,103,104]. En dépit de cette amélioration les résultats sur l'HbA1c après plusieurs semaines de traitement restent un peu décevants : réduction de 0,1% voire même moindre quand les sujets traités par les formulations ultra-rapides de l'asparte (études onset 1 et 2 [92,93]) ou de la lispro (études PRONTO 1 et 2 [103,104]) sont comparés à ceux qui sont traités par les insulines rapides de référence : asparte et lispro.

### ***2) Les analogues prolongés : une marche continue vers des préparations insuliniques de plus en plus longues***

Leur obtention peut suivre plusieurs voies.

#### a) La voie de la modification du point isoélectrique

C'est la première qui a été empruntée. En effet l'histoire des analogues de l'insuline à action prolongée a débuté avec la NovoSol Basal lorsque les chercheurs du laboratoire Novo développèrent une préparation insulinique capable de précipiter dans le tissu cellulaire sous cutané en modifiant son point isoélectrique pour le faire passer de 5,4 à 6,8. Pour la NovoSol Basal cet effet fut obtenu par une amidation de l'extrémité B30 de la chaîne B [105]. Toutefois le développement de la NovoSol Basal fut rapidement stoppé en raison d'effets secondaires en particulier de réactions inflammatoires au niveau du point d'injection. Le mérite de la NovoSol Basal fut d'introduire le concept de modification du point isoélectrique [106] qui a ultérieurement conduit à la glargine [11,107]. Dans cette séquence chronologique qui a mené de la NovoSol Basal à la glargine, il convient de signaler une étape intermédiaire représentée par la diarginyl-insuline [108]. Cette insuline constituée par 2 résidus arginine rajoutés à la chaîne B en position B31 et B32 est présente dans un métabolite intermédiaire, la désamino B31,B32 proinsuline, qui se forme lors de la bioconversion de la

proinsuline en insuline native [30] (figure 10). Dans un premier temps, une endopeptidase clive la proinsuline entre les acides aminés B32 et B33, laissant ainsi les 2 arginines en B31 et B32 accessibles à une décarboxylase qui les détache pour donner naissance à une désamino B31, B32 proinsuline. Cette dernière est enfin clivée entre l'acide aminé A1 de la chaîne A et l'acide aminé B65 pour libérer l'insuline native et le peptide C. C'est à partir de ces observations que fut conçue la diarginyl-insuline dont le point isoélectrique est égal à 7,0, ce qui entraîne sa précipitation lorsqu'elle est injectée dans le tissu cellulaire sous cutané dont le pH est à 7,3. Dans une étape ultérieure, avec le débranchement en deux temps des 2 résidus arginine, l'insuline pleinement active est enfin libérée. Avec un point isoélectrique de 5,4, elle retrouve sa solubilité, passe dans le torrent circulatoire et exerce son activité normale au niveau des récepteurs insuliniques.

La glargine, premier analogue lent mis sur le marché en 2003 sous le nom de Lantus® peut être considérée comme la fille de la NovoSol Basal [105] et de la diarginyl-insuline [108]. En effet, elle conserve les deux résidus arginine rajoutés en B31 et B32 pour modifier le point isoélectrique et elle est l'objet d'une substitution de l'acide aminé en A21 (un résidu arginine) par de la glycine pour assurer sa stabilité [107]. Elle est inactive dans sa forme injectée, qui précipite sous la peau (figure 8). Son activité est conditionnée par la libération en deux temps de ses 2 métabolites actifs [80] : le métabolite M1 par perte des 2 arginines en position B31 et B32 et le métabolite M2 par perte supplémentaire de la thréonine en position B30. C'est le métabolite M1 qui ne diffère de l'insuline humaine native que par l'acide aminé en A21 qui est le métabolite majoritaire et qui porte 90% de l'activité insulinique [80]. Pour les raisons que nous avons évoquées plus haut dans le paragraphe consacré à la pharmacocinétique et la pharmacodynamie des insulines, la glargine a une durée d'action de l'ordre de 24 heures [26,71,109] avec un maximum qui se situe 10 à 12 heures après l'injection [71] pour décroître ensuite de manière progressive (figure 9). Le profil d'action est dû à sa précipitation dans le tissu cellulaire sous cutané avant la libération de sa forme active dans le plasma (figure 8).

Jusqu'à une période récente, la glargine U100 (Lantus®) a été considérée comme la référence en termes d'analogue lent de l'insuline. Devant le succès de cette préparation depuis son autorisation de mise sur le marché dans l'Union Européenne (European Medicines Agency [EMA] le 9 juin 2000), il n'est pas étonnant que plusieurs laboratoires de l'industrie pharmaceutique se soient lancés dans le développement et la production de biosimilaires de l'insuline glargine. Il convient de rappeler que le terme « biosimilaire » correspond à un concept identique à celui de « générique », la seule différence résidant dans le fait que le « générique » est la copie a priori identique d'un médicament de nature chimique alors que le biosimilaire est la copie a priori identique d'une substance biologique (en général de nature protéique) à visée thérapeutique. Ainsi défini, le « biosimilaire » doit avoir la même structure chimique, les mêmes propriétés physico-chimiques et au delà la même efficacité et

sûreté clinique que le produit original dont il est censé être la copie. Pour l'Abasaglar®, biosimilaire de la glargine U100, les propriétés cliniques sont totalement identiques au produit mère comme l'on montré les études ABED (ou ELEMENT-1) et ABEC (ou ELEMENT-2) qui ont été conduites respectivement chez des patients diabétiques de type 1 ou de type 2 [110]. Par ailleurs, toutes les études de pharmacocinétique et de pharmacodynamie ont établi qu'il existe une similarité parfaite entre les deux produits [61,111].

Au cours des dernières années, l'histoire de la glargine a fait l'objet d'une nouvelle jeunesse avec la commercialisation de sa formulation concentrée, la glargine U300. L'idée de concentrer les préparations insuliniques pour augmenter leur durée d'action est déjà relativement ancienne [50]. Elle est basée sur le fait que la surface d'échange entre le dépôt insulinique et le tissu cellulaire sous cutané est plus faible lorsque l'insuline est injectée sous une forme hyperconcentrée [112]. Cette explication paraît logique, mais pour qu'elle ait une application pratique en termes de ralentissement de l'absorption encore faudrait-il que la concentration soit augmentée de manière significative. Si on prend pour exemple la lispro U200, sa vitesse de résorption est identique à celle de la lispro 100 [113]. En revanche une insuline humaine régulière titrée à 500 unités/mL a une résorption beaucoup plus longue que celle de l'insuline régulière U100 et elle se comporte comme une insuline semi lente [114]. Un simple calcul mathématique montrerait que les passages d'une forme U100 à U200, d'une forme U100 à U300 et d'une forme U100 à U500 réduisent respectivement les surfaces d'échange de 30%, 50% et 66%. Il semble donc qu'une réduction de la surface du dépôt de l'ordre de 50% soit indispensable pour avoir une traduction pratique en termes de ralentissement de la résorption dans le tissu cellulaire sous cutané. Ceci pourrait expliquer que la dégludec U200 ne présente pas d'avantage substantiel par rapport à sa formulation titrée à 100 unités/mL [115-117] quand elle est comparée à la glargine U300.

#### b) La voie de la « protraction » dans le tissu cellulaire sous cutané couplée à la fixation sur l'albumine sérique

L'acylation de l'insuline par branchement sur la chaîne B de l'insuline en B29 d'une séquence carbonée sous la forme d'un acide gras à 14 atomes de carbone pour la détémir (Lévémir®) ou à 16 atomes de carbone pour la dégludec (Trésiba®) (figure 11) a permis d'obtenir des préparations insuliniques à effet prolongé : 14 à 16 heures pour la détémir [82,118] et plusieurs jours pour la dégludec [77,119]. L'obtention de cet effet est basée sur le phénomène de « protraction » de l'insuline caractérisé par une agglutination des unités insuliniques pour donner des configurations di-hexamériques ou multi-hexamériques après injection sous cutanée [120-122]. Pour comprendre le phénomène de protraction, il convient de revenir à la structure de l'insuline native [1] (figure 4). Les

2 chaînes A et B possèdent des séquences alpha hélicoïdales. Pour la chaîne A, les deux séquences sont situées entre les positions A1 et A8 pour la première et entre A12 et A20 pour la seconde. La chaîne B possède une séquence alpha hélicoïdale qui peut s'étendre de la position B1 à B19 ou de la position B8 à B19. Dans sa première configuration (appelée forme relâchée ou « *Relax* », forme R) l'insuline se présente sous forme d'hexamères. Le passage à la deuxième forme (appelée tendue ou « *Tense* », forme T) se traduit par une protraction des hexamères qui par auto-association conduisent à des di-hexamères (détémir) ou à des multi-hexamères (dégludec) [121,123] (figure 8). Si on prend l'exemple de la dégludec, elle est présente dans la préparation injectable sous forme de di-hexamères avec une configuration mixte « *Relax - Tense* ». Après injection, la perte du phénol présent dans la préparation entraîne une conversion en configuration « *Tense* » avec formation de multi-hexamères (figure 8). Dans un temps ultérieur, la perte de zinc plus lente que la perte de phénol, s'accompagne d'un retour à une forme hexamérique « *Relax* » puis à des monomères qui passent dans la circulation pour exercer leur activité (figure 8) [123]. Bien que les structures de la détémir et de la dégludec soient en apparence voisines (délétion de la thréonine en B30, présence d'une chaîne carbonée greffée en B29), les 2 préparations ont des durées d'action très différentes [77,82,119,19] (figure 9). Ces différences s'expliquent par la protraction beaucoup plus intense pour la dégludec que pour la détémir (figure 8). Les différences sont les suivantes: a) chaîne carbonée plus longue dans la dégludec (16 atomes de carbone) que dans la détémir (14 atomes de carbone) ; b) insertion de la chaîne carbonée dans la dégludec sur l'acide aminé B29 (la lysine) grâce à un « *spacer* » constitué par de l'acide gamma L glutamique (figure 11). C'est cette dernière modification qui semble jouer un rôle clé [123]. La détémir et la dégludec partagent en commun la propriété de se fixer sur l'albumine plasmatique avec pour résultat de ralentir encore plus leur libération sous forme libre dans le plasma (figure 8) [77,81,82]. Nous rappellerons ici que les dosages plasmatiques de la détémir et de la dégludec englobent à la fois la forme libre et la forme liée, la fraction liée étant très majoritaire. Bien que le pourcentage de la fraction liée n'ait jamais été quantifié, il est certainement supérieur à 95% et pourrait même atteindre 99% pour la dégludec [124].

### c) Les avantages des analogues ultralents (glargine U300 et dégludec) par rapport aux analogues lents ou semi lents

Comme nous l'avons indiqué plus haut dans cette revue, le but des insulines ultralentes (glargine U300 et dégludec) dont la durée d'action dépasse 24 heures est surtout d'obtenir des préparations dont l'action est beaucoup plus étale au cours du temps que les formulations lentes (glargine U100) ou à un moindre degré intermédiaires entre les lentes et les semi lentes (détémir) (figure 9). Cette propriété leur vaut le qualificatif de « *flat insulins* » et leur permet de réduire les fluctuations glycémiques sur le nyctémère [125] et au delà le risque d'hypoglycémie. En effet, il a été démontré

que ce dernier augmente avec l'intensité de la variabilité glycémique mais qu'il reste relativement faible si le coefficient de variation du glucose (%CV = [déviat ion standard autour de moyenne glycémique de 24 heures/moyenne glycémique des 24 heures] x 100) est < 34% [126]. Cette réduction des hypoglycémies, en particulier nocturnes, a été confirmée par les études EDITION [127-131] quand la glargine U300 est comparée à la glargine U100 et par d'autres études en particulier les études BEGIN et DEVOTE [132-136] quand la dégludec est testée contre la glargine U100. Il est à noter que dans ces études la réduction des hypoglycémies a pu être obtenue avec une exposition chronique au glucose (HbA1c) comparable dans les groupes glargine U300, dégludec et glargine U100. Ainsi, les avantages des insulines ultralentes sont indiscutables, surtout depuis que la fausse polémique concernant leurs effets mitogènes potentiels, en particulier vis à vis de la glargine se sont éteints en 2012 avec la publication de l'étude interventionnelle ORIGIN [137] après une longue controverse infondée, amorcée dans les années 2009 par des articles portant sur des données observationnelles [138].

## **Le futur des préparations insuliniques**

Essayer d'écrire le futur est toujours hasardeux, surtout quand l'expérience nous montre que ceux qui se lancent dans cet exercice ont de fortes chances d'être démentis par les faits. Toutefois plusieurs pistes peuvent être envisagées avec une échelle décroissante de probabilité.

### **1) Les analogues prolongés à durée hebdomadaire**

C'est une des pistes qui nous paraît prometteuse dans les années à venir. La première insuline « hebdomadaire », l'icodec, est en cours de développement. Elle a fait l'objet de plusieurs communications au dernier congrès de l'American Diabetes Association au mois de juin 2020 [78,139]. L'icodec fait partie comme la dégludec et la détémir des insulines acylées, avec l'insertion d'un acide gras sur l'acide aminé en position B29 (la lysine) (figure 11). L'acide gras est plus long (20 atomes de carbone) que dans la dégludec et la détémir et le « spacer » qui sert à l'insertion (un oligoéthylène glycol de l'acide γ L glutamique) est différent de celui de la dégludec (simple acide γ L glutamique). Comme pour la dégludec et la détémir, le résidu en B20 (la thréonine) a été supprimé. Ces changements confèrent à l'icodec des propriétés qu'elle partage avec la dégludec et la détémir : protraction dans le tissu cellulaire sous cutané, puis fixation sur l'albumine plasmatique. Le côté novateur de l'icodec est la présence de 3 substitutions sur les 3 acides aminés qui se situent en A14, B16 et B25 [139]. La modification la plus importante est celle qui porte sur la phénylalanine en B25, qui est remplacée par de l'histidine. Cette substitution ralentit la fixation de l'insuline sur son récepteur. Nous avons vu précédemment que les acides aminés compris dans la zone B23 à B26

jouent un rôle fondamental dans cette liaison insuline-récepteur et qu'une modification à ce niveau peut altérer pour le meilleur (ralentissement) ou pour le pire (disparition) l'action de l'insuline. Dans le cas de l'icodec, il s'agit d'un ralentissement. Toutefois, les problèmes cliniques ne sont pas résolus : titration au moment de l'initiation de ce type d'insuline hebdomadaire, adaptation des doses en cours de traitement, problème de superposition de doses si la dose injectée une semaine avant continue d'être partiellement active quand on fait l'injection suivante une semaine après. L'empilement des doses peut poser un problème chaque fois que les insulines exercent leur action au-delà de 24 heures [66,140]. Seul l'avenir dira si cette préparation peut être promise à un développement ultérieur.

## **2) Les autres pistes improbables ou très improbables dans un futur proche**

### a) Les voies d'administration alternative

Elles ont pour objectif d'éviter les injections sous-cutanées [141]. En ce qui concerne la voie orale, elle n'a jamais conduit à un développement commercial. Il est d'ailleurs étonnant de constater que certains s'entêtent de manière épisodique à persister dans cette voie malgré des tentatives multiples qui se sont avérées infructueuses [141]. La voie pulmonaire a été utilisée sous forme d'insulines inhalées. Le premier produit de ce type approuvé transitoirement par la FDA aux Etats Unis (l'Exubera®) a été retiré en 2007 après un an d'utilisation en raison de sa mauvaise tolérance et de son faible niveau de prescription. Quelques années plus tard, en 2014, une nouvelle formulation d'insuline inhalée sous forme de technosphères traversant rapidement la barrière broncho alvéolaire [142,143] a été développée pour couvrir les besoins insuliniques postprandiaux des diabètes de type 1 et de type 2 insulinés. Commercialisée en 2015 aux Etats Unis sous le nom d' Afrezza®, elle n'a reçu qu'un accueil confidentiel de la part des patients et des prescripteurs. Dans ces conditions il n'est pas étonnant que la licence d'exploitation signée entre la société californienne ayant développé le produit (MandKind Corporation) et le laboratoire Sanofi ait été rompue en 2016. Toutefois cette formulation inhalée de l'insuline a un profil pharmacocinétique très rapide (pic entre la 5<sup>ème</sup> et la 10<sup>ème</sup> minute après l'inhalation et durée d'action qui ne dépasse pas 2 heures ([143]), ce qui la rend très efficace pour réduire les montées glycémiques postprandiales pendant les 60 premières minutes après le début de la prise alimentaire [144-146]. Malheureusement son action ne s'étend guère au-delà, ce qui pose quelques problèmes pour contrôler la totalité des excursions glycémiques postprandiales et pour savoir dans quel type de diabète elle peut être réellement utile, avec une question clé : « *Is faster better ?* » [147]. L'Afrezza a fait encore l'objet d'études récentes [146], ce qui semble indiquer que son avenir n'est pas totalement bouché, même s'il reste incertain.

## b) La voie des insulines « intelligentes »

Ces insulines, également désignées sous le titre de « *smart insulins* » [148,149] ne seraient libérées que lorsque la glycémie est augmentée, leur libération s'arrêtant dès que le taux de glucose sanguin revient à la normale.

- L'une de ces préparations a été obtenue en fixant des conjugués de l'acide phénylboronique sur l'insuline [150]. Les études sur la souris ont permis de valider le concept, mais pour l'instant l'application chez l'homme reste du domaine de la futurologie.

- Une autre voie de développement des « *smart insulins* » a consisté à développer un « *patch* » de microaiguilles contenant des vésicules glucosensibles chargées en insuline et en glucose oxydase [151]. Les vésicules sont elles-mêmes constituées par de l'acide hyaluronique sensible à l'hypoxie. La suite semble plus complexe quand on sait que la cascade d'évènements conduisant à la libération d'insuline serait la suivante : a) étape 1, oxydation du glucose par la glucose oxydase quand le milieu contient trop de glucose, b) étape 2, hypoxie secondaire du micro-environnement ; c) étape 3, réduction de l'acide hyaluronique ; d) étape 4, dissociation des vésicules et e) étape 5, libération de l'insuline. Pour l'instant ce système reste expérimental et rien ne dit s'il pourra un jour être appliqué chez l'homme.

## **Conclusion**

Au terme de cette revue, il apparaît que les préparations insuliniques d'aujourd'hui n'ont plus rien à voir avec celles qui avaient été développées avant l'ère de l'ADN recombinant. Cette technologie a révolutionné la fabrication des insulines en permettant la production d'insulines purifiées, non immunogènes et surtout dont on peut modifier le profil d'action afin d'obtenir des analogues rapides de plus en plus rapides et des analogues prolongés de plus en plus longs. Les bénéfices pour les patients sont évidents : moins d'hypoglycémies, meilleur contrôle des glycémies postprandiales et de l'exposition chronique au glucose. Pour conclure, il convient de souligner un point fondamental : les préparations insuliniques ne sont que des outils et le succès thérapeutique dépend de la qualité de leur manipulation par le patient. Ceci signifie que l'éducation thérapeutique reste une démarche fondamentale dans la prise en charge des personnes diabétiques insulinées.

## Références

- [1] De Myets P. Insulin and its receptor : structure, function and evolution. *Bioassays* 2004;26:1351-1362
- [2] Menting JG, Whittaker J, Margetts MB, Whittaker LJ, Kong GK-W, Smith BJ, et al. How insulin engages its primary binding site on the insulin receptor. *Nature* 2013;493:241-245
- [3] Owens DR, Jones MK, Hayes TM, Heding LG, Alberti KGMM, Home PD, et al. Comparative study of subcutaneous, intramuscular and intravenous administration of human insulin. *Lancet* 1981;ii:118-121
- [4] Hirsch IB. Insulin analogs. *N Engl J Med* 2005;352:174-183
- [5] Owens DR, Matfin G, Monnier L. Basal insulin analogues in the management of diabetes mellitus. What progress have we made? *Diabetes Metab Res Rev* 2014;30:104-119
- [6] Hagedorn HC, Jensen RN, Krarup NB, Worstrup L. Protamine insulin. *JAMA* 1936;106:177-180
- [7] Goeddel DV, Kleid DG, Bolivar F, Heyneker HL, Yansura DG, Crea R et al. Expression in *Escherichia Coli* of chemically synthesized genes for human insulin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979;76:106-110
- [8] Crea R, Kraszewski A, Hirose T, Itakura K. Chemical synthesis of genes for human insulin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75:5765-5769
- [9] Skyler JS, Pfeiffer EP, Raptis S, Viberti GC. Biosynthetic human insulin: progress and biologic prospects. *Diabetes Care* 1981;4:140-143
- [10] Chance RE, Kroeff EP, Hoffmann JA, Frank BH. Chemical, physical and biologic properties of biosynthetic human insulin. *Diabetes Care* 1981;4:147-154
- [11] Bolli GB, Di Marchi RD, Park GD, Pramming S, Koivisto VA. Insulin analogues and their potential in the management of diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999;42:1151-1167
- [12] Bolli GB, Owens DR. Insulin glargine. *Lancet* 2000 ;356 :443-445
- [13] Markussen JAN, Damgaard U, Pingel M, Snel L, Sorensen AR, Sorensen E. Human insulin (NOVO) chemistry and characteristics. *Diabetes Care* 1983;6 (Suppl 1), 4-8
- [14] Homanaberg GA, Mattis JA, Laskowski M. Synthesis of peptide bonds by proteinases. Addition of organic cosolvents shifts peptide bond equilibria toward synthesis. *Biochemistry* 1978;17:5220-5227
- [15] Morihara K, Oka T, Tsuzuki H. Semisynthesis of human insulin by trypsin-catalysed replacement of Ala-B30 by Thr in porcine insulin. *Nature* 1979;280:412-413
- [16] Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Recombinant DNA and genomics (chapter 7) In: *Molecular Cell Biology* (fourth edition) W.H. Freeman and Company (New York): 2002;pp 207-253
- [17] Johnson IS. Authenticity and purity of human insulin (recombinant DNA). *Diabetes Care* 1982;5 (Suppl 2): 4-12
- [18] Waldhäusl WK, Kastner G, Komjati M, Brastusch-Marrain P. Studies on the biologic actions of biosynthetic human insulin in vitro and in diabetic man. *Diabetes Care* 1981;4:205-208

- [19]Keefer LM, Piron M-A, De Myets P. Receptor binding properties and biologic activity in vitro and biosynthetic human insulin. *Diabetes Care* 1981;4:209-214
- [20]Schernthaner G, Borkenstein M, Fink M, Mayr WF, Menzel J, Shober E. Immunogenicity of human insulin (NOVO) pork monocomponent insulin in HLA-DR typed insulin-dependent diabetic individuals. *Diabetes Care* 1983;6 (Suppl 2):43-48
- [21]Fineberg SE, Galloway JA, Fineberg NA, Rathburn MJ. Immunologic improvement resulting from the transfer of animal-insulin treated diabetic subjects to human insulin (recombinant DNA). *Diabetes Care* 1982;5 (Suppl 2):107-113
- [22]Fireman P, Fineberg SE, Galloway JA. Development of IgE antibodies to human (recombinant DNA), porcine, and bovine insulins in diabetic subjects. *Diabetes care* 1982;5 (Suppl 2):119-125
- [23]Velcovsky HG, Federlin KE. Insulin- specific IgG and IgE antibody response in type 1 diabetic subjects exclusively treated with human insulin (recombinant DNA). *Diabetes Care* 1982;5 (Suppl 2):126-128
- [24]Rossetti P, Porcelatti F, Fanelli CG, Perriello G, Torlone R, Bolli GB. Superiority of insulin analogues versus human insulin in the treatment of diabetes mellitus. *Arch Physiol Biochem* 2008;114:3-10
- [25]Howey DC, Bowsheer RR, Brunelle RL, Woodworth JR. [Lys (B28),Pro (B29)]-Human insulin. A rapidly absorbed analogue of human insulin. *Diabetes* 1994;43:396-402
- [26]Lepore M, Pampanelli S, Fanelli C, Porcellati F, Bartocci L, Di Vincenzo A et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of subcutaneous injection of long-acting insulin analog glargine, NPH insulin, and ultralente human insulin and continuous subcutaneous infusion of insulin lispro. *Diabetes* 2000;49:2142-2148
- [27]Bolli GB, Andreoli AM, Lucidi P. Optimizing the replacement of basal insulin in type 1 diabetes mellitus: no longer an elusive goal in the post-NPH era. *Diabetes Technol Ther* 2011;13 (Suppl 1): S-43-S-52
- [28] American Diabetes Association. Pharmacologic approaches to glycemic treatment/ Standards Of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care* 2020;43(Suppl1):S98-S110
- [29]Home PD, Lindhoum A, Hylleberg B, Round P, for the UK Insulin Aspart Study Group. Improved glycemic control with insulin Aspart. *Diabetes Care* 1998;21:1904-1909
- [30] Rhodes CJ. Processing of the insulin molecules (chapter 4). In: *Diabetes mellitus. A fundamental and clinical text*: D LeRoith, SI Taylor, JM Olefsky (Eds). Lippincott-Raven publishers. Philadelphia, New York 1996;pp 27-41
- [31]Mirmira RG, Nakagawa SH, Tager HS. Importance of the character and configuration of residues B24, B25 and B26 in insulin-receptor interactions. *J Biol Chemistry* 1991;25:1428-1436
- [32]Pandeyarajan V, Smith BJ, Phillips NB, Whittaker L, Cox GP, Wickramasinghe N, et al. Aromatic anchor at an invariant hormone-receptor interface. Function of insulin residue B24 with application to protein design. *J Biol Chemistry* 2014;289:34709-34727
- [33]Rege NK, Liu M, Yang Y, Dhayalan B, Wickramasinghe NP, Chen Y-S, et al. Evolution of insulin at the edge of foldability and its medical implications. *Proc Natl Acad Sci* 2020 [Epub ahead of print] published on line November 5, 2020.<https://doi.org/10.1073/pnas.2010908117>
- [34]Pandeyarajan V, Philipps NB, Cox GP, Yang Y, Whittaker J, Ismail-Beiji F, et al. Biophysical optimization of a therapeutic protein by non standard mutagenesis. Studies of an iodo-insulin derivative. *J Biol Chemistry* 2014;289:23367-23381

- [35]Hansen BF, Kurtzhals P, Jensen AB, Dejgaard A, Russell-Jones D. Insulin X10 revisited: a super mitogenic insulin analogue. *Diabetologia* 2011;54:2226-2231
- [36]Drejer K, Kruse V, Larsen UD, Hougaard P, Bjorn S, Gammelfolt S. Receptor binding and tyrosine kinase activation by insulin analogues with extreme affinities studied in human hepatoma Hep G2 cells. *Diabetes* 1991;40:1488-1495
- [37]Lammers R, Gray J, Schlessinger J, Ullrich A. Different signalling potential of insulin -and IGF-1-receptor cytoplasmic domains. *EMBO J* 1989;8:1369-1375
- [38]Hansen BF, Danielsen GM, Drejer K, Sorensen AR, Wiberg EC, Klein HHN et al. Sustained signalling from the insulin receptor after stimulation with insulin analogues exhibiting increased mitogenic potency. *Biochem J* 1996;315:271-279
- [39]Stoy J, Edghill EL, Flanagan SE, Ye H, Paz VP, Pluzhnikov A et al. Insulin gene mutation as a cause of permanent neonatal diabetes. *Proc Natl Acad Sci* 2007;104:15040-15044
- [40]Weiss MA. Proinsulin and the genetics of diabetes mellitus. *J Biol Chemistry* 2009;284:19159-19163
- [41]Haataja L, Manickam N, Soliman A, Tsai B, Liu M, Arvan P. Disulfide mispairing during proinsulin folding in the endoplasmic reticulum. *Diabetes* 2016;65:1050-1060
- [42] Zimmerman RE, Stokell DJ, Akers MP. Glargine proinsulin and methods of producing glargine insulin analogs therefrom US 20120214965A1 [Internet] 2012  
<http://www.google.com/patents/US20120214965>
- [43]Frank BH, Pettee JM, Zimmerman RE, Burck PJ. The production of human proinsulin and its transformation to human insulin and C-peptide. In *Peptides: Synthesis-Structure-Function*. Rich DH, Gross E (Eds). Rockford, IL, Pierce Chemical Company 1981;16:pp 729-738
- [44]Chance RE, Frank BH. Research, development, production, and safety of biosynthetic human insulin. *Diabetes Care* 1993;16 (Suppl 3):133-142
- [45]Brange J, Ribbel U, Hansen JF, Dodson G, Hansen MT, Havelund S, et al. Monomeric insulins obtained by protein engineering and their medical implications. *Nature* 1988;333:679-682
- [46]Brange J, Owens DR, Kang S, Valund A. Monomeric insulins and their experimental and clinical implications. *Diabetes Care* 1990;13:923-954
- [47]Brems DN, Alter LA, Beckage MJ, Chance RE, Di Marchi RD, Green LK. Altering the association properties of insulin by amino acid replacement. *Protein Engineering Design and Selection* 1992;5:527-533
- [48]Di Marchi RD, Chance RE, Long HB, Shields JE, Slicker 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):S93-S96
- [49]Blundell T, Dodson G, Hodgkin D, Mercola D. Insulin: the structure in the crystal and its reflection in chemistry and biology. *Adv Protein Chem* 1972;26:279-402
- [50]Binder C, Lauritzen T, Faber O, Pramming S. Insulin pharmacokinetics. *Diabetes Care* 1984;7:188-199
- [51]Di Marchi R, Long H, Epp J, Schoner B, Belagage R. Synthesis of insulin-like growth factor I through recombinant DNA techniques and selective chemical cleavage at tryptophane. In: Tam JP, Kaiser ET (Eds) *Synthetic peptides to biological problems*. Liss, New York 1989:pp283-294
- [52]Galloway JA, Chance RE, Suk SE. Human insulin and its modifications. In: *The Clinical Pharmacology of Biotechnology Products*. Reidenberg MM (Ed). Amsterdam, Elsevier Science Publishers BV.1991:pp23-34
- [53]Simpson KI, Spencer CM. Insulin aspart. *Drugs* 1999;57:759-765

- [54]Becker RHA, Frick AD, Burger F, Potgleter JH, Scholtz H. Insulin glulisine, a new rapid-acting insulin analogue, displays a rapid-time-action profile in obese non-diabetic subjects. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2005;113:435-443
- [55]Becker RHA, Frick AD. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of insulin glulisine. *Clin Pharmacokinetics* 2008;47:7-20
- [56]Mudallar S, Lindberg RA, Joyce M, Beerdsen P, Lin A, Henry RR. Insulin aspart (B28 asp-insulin): a fast-acting analog of human insulin: absorption kinetics and action profile compared with regular human insulin in healthy nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 1999;22:1501-150
- [57]Gerrintzen F. The classification of various insulins. *Br Med J* 1953;2:1030-1031
- [58]DeFronzo RA, Tobin JD, Andres E. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237:E214-E223
- [59]Porcellati F, Bolli GB, Fanelli CG. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of basal insulins. *Diabetes Technol Ther* 2011;13 (Suppl 1):S-15-S-24
- [60]Porcellati F, Bolli GB, Fanelli CG. How to accurately establish pharmacokinetics/pharmacodynamics of long-acting insulins in humans: relevance to biosimilar insulins. *Diabetes Care* 2015;38:2237-2240
- [61]Home P. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of biosimilar insulins: is clamp technology fit for this purpose? *Diabetes Care* 2015;38:2234-2236
- [62]Heise T, Zijffstra E, Nosek L, Heckermann S, Plum-Mörschel L, Forst T. Euglycemic glucose clamp: what it can and cannot do and how to do it. *Diabetes Obes Metab* 2016;18:932-972
- [63]Bailey TS, Pettus J, Roussel R, Schmider W, Maroccia M, Nassr N et al. Morning administration of 0.4 U/kg/day insulin glargine U300/mL provides less fluctuating 24-h pharmacodynamics and more even pharmacokinetic profiles compared with insulin degludec 100U/mL in type 1 diabetes. *Diabetes Metab* 2017;44:15-21
- [64]Heise T, Norskov M, Nosek L, Kaplan K, Famulla S, Haahr HL. Insulin degludec: lower day-to-day and within-day variability in pharmacodynamics response compared with insulin glargine 300 U/mL in type 1 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2017;19:1032-1039
- [65]Monnier L, Colette C. Pharmacological variability of insulin degludec and glargine 300 U/mL: Equivalent or not? *Diabetes Metab* 2018;44:1-3
- [66]Heise T, Meneghini LF. Insulin stacking versus therapeutic accumulation: understanding the differences. *Endocrine Pract* 2014;20:75-83
- [67]Frost DP, Srivastata MC, Jones RH ; Nabarro JD, Sonken PH. The kinetics of insulin metabolism in diabetes mellitus. *Postgrad Med J* 1973;49 (Suppl 7):949-954
- [68]Yaniez JA, Remsberg CM, Sayre CL, Forrest ML, Davies NM. Flip-flop pharmacokinetics-delivering a reversal of disposition: challenges and opportunities during drug development. *Ther Deliv* 2011;2:643-672
- [69]Swinnen SG, Holleman F, DeVries JH. The interpretation of glucose studies of long-acting insulin analogues: from physiology to marketing and back. *Diabetologia* 2008;51:1790-1795
- [70]Owens DR. *Human insulin: Clinical Pharmacological Studies in Normal Man*. Lancaster. MTP Press, 1986:p138
- [71]Becker RHA, Dahmen R, Bergmann K, Lehmann A, Jax T, Heise T. New insulin glargine 300 units. mL<sup>-1</sup> provides a more even activity profile and prolonged glycemic control at steady state compared with insulin glargine 100 units.mL<sup>-1</sup>. *Diabetes Care* 2015;38:637-643
- [72]DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes; metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev* 1997;5:177-269

- [73] Girard J. Les actions physiologiques de l'insuline. Médecine des maladies Métaboliques 2008 ;2 (Suppl 2) :S124-S129
- [74] Groop LC, Bonnadonna RC, Del Prato S, Ratheiser K, Zych K, Ferrannini E, et al. Glucose and free fatty acid in non-insulin-dependent diabetes mellitus: evidence for multiple sites of insulin resistance. J Clin Invest 1989;84:205-215
- [75] Stumvoll M, Jacob S. Multiple sites of insulin resistance: muscle, liver and adipose tissue. Exp Clin Endocrinol Diabetes 1999;107:107-110
- [76] Monnier L, Colette C, Owens D. Basal insulin analogs: from pathophysiology to therapy : what we see, know and try to comprehend? Diabetes Metab 2013;39:468-476
- [77] Haahr H, Heise T. A review of the pharmacological properties of insulin degludec and their clinical relevance. Clin Pharmacokinet 2014;53:787-800
- [78] Hövelmann U; Brønsted L, Kristensen NR, Ribel-Masen R; DeVries JH, Heise T et al. Insulin Icoded: An insulin analog suited for one-weekly dosing in type 2 diabetes. Diabetes 2020;69 (Suppl 1):237-OR
- [79] Agin A, Sapin E. Analogues et dosages d'insuline: le cas général et le cas particulier de la glargine. Médecine Nucléaire 2010 ;34 :571-582
- [80] Bolli GB, Hahn AD, Schmidt R, Eisenblatter T, Dahmen R, Heise T et al. Plasma exposure to insulin glargine and its metabolites M1 and M2 after subcutaneous injection of therapeutic and suprathreshold doses of glargine in subjects with type 1 diabetes. Diabetes Care 2012;35:2626-2630
- [81] Dea MK, Hamilton-Wessler M, Ader M, Moore D, Schäffer L, Loftager M et al. Albumin binding of acylated insulin (NN304) does not deter action to stimulate glucose uptake. Diabetes 2002;51:762-769
- [82] Danne T, Lüpke K, Walte K, Von Schuetz W, Gall M-A. Insulin detemir is characterized by a consistent pharmacokinetic profile across age-groups in children, adolescents and adults with type 1 diabetes. Diabetes Care 2003;26:3087-3092
- [83] Monnier L, Colette C. Insulinothérapie dans le diabète de type 1 et 2. In : Diabetologie (3<sup>ème</sup> édition). L Monnier (Ed). Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux (France) 2019:pp152-178
- [84] Owens DR, Zinman B, Bolli GB. Insulin today and beyond. Lancet 2001;358:739-746
- [85] Danne T, Becker RHA, Heise T, Bittner C, Frick AD, Rave K. Pharmacokinetics, prandial glucose control, and safety of human glulisine in children and adolescents with type 1 diabetes. Diabetes Care 2005;28:2100-2105
- [86] Heinemann L, Muchmore DB. Ultrafast-acting insulins: state of the art. J Diabetes Sci Technol 2012;6:728-742
- [87] Morrow L, Muchmore DB, Hompesch M, Ludington EA, Vaughn DE. Comparative pharmacokinetics and insulin action of three rapid-acting insulin analogs injected subcutaneously with and without hyaluronidase. Diabetes Care 2013;36:273-275
- [88] Heise T, Hövelmann U, Brønsted L, Adrian CL, Nosek L, Haahr H. Faster-acting insulin aspart: earlier onset of appearance and greater early pharmacokinetic and pharmacodynamic effects than insulin aspart. Diabetes Obes Metab 2015;17:682-688
- [89] Heise T, Hövelmann U, Zijlstra E, Stender-Petersen K, Bonde Jacobsen J, Haahr H. A comparison of pharmacokinetic and pharmacodynamic properties between faster-acting insulin aspart and insulin aspart in elderly subjects with type 1 diabetes mellitus. Drugs Aging 2017;34:29-38
- [90] Heise T, Stender-Petersen K, Hövelmann U, Bonde Jacobsen J, Nosek L, Zijlstra E, et al. Clin Pharmacokinet 2017 ;56 :649-660

- [91] Fath M, Danne T, Biester T, Erichsen L, Kordonouri O, Haahr H. Faster-acting insulin aspart provides faster onset and greater early exposure vs insulin aspart in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2017;18:903-910
- [92] Russell-Jones D, Bode BW, De Block C, Franck E, Heller SR, Mathieu C, et al. Fast-acting insulin aspart improves glycemic control in basal-bolus treatment for type 1 diabetes : results of a 26-week multicenter, active-controlled, treat-to-target, randomized, parallel-group trial (onset 1). *Diabetes Care* 2017;40:943-950
- [93] Bowering K, Case C, Harvey J, Reeves M, Sampson M, Strzinek R, et al. Faster aspart versus insulin aspart as part of a basal-bolus regimen in inadequately controlled type 2 diabetes: the onset 2 trial. *Diabetes Care* 2017;40:951-957
- [94] Owens DR, Bolli GB. The continuing quest for better subcutaneously administered prandial insulins: a review of recent development and potential clinical implications. *Diabetes Obes Metab* 2020;22:743-754
- [95] Monnier L, Colette C, Dunseath GJ, Owens DR. The loss of postprandial glycemic control precedes stepwise degradation of fasting with worsening diabetes. *Diabetes Care* 2007;30:263-269
- [96] Monnier L, Colette C, Dejager S, Owens DR. Magnitude of the dawn phenomenon and its impact on the overall glucose exposure in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2013;36:4057-462
- [97] Porcellati F, Lucidi P, Bolli GB, Fanelli CG. Thirty years of research on the dawn phenomenon: lessons to optimize blood glucose control in diabetes. *Diabetes Care* 2013;36:3860-3862
- [98] Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Folding, modification and degradation of proteins (chapter 3.2) In: *Molecular Cell Biology (Fourth edition)*. WH Freeman and Company. (New York) 2002:pp 62-68
- [99] Heise T, Meiffren G, Alluis B, Seroussi C, Ranson A, Arrubla J, et al. Biochaperone lispro versus faster aspart and insulin aspart in patients with type 1 diabetes using continuous insulin infusion: a randomized euglycemic clamp study. *Diabetes Obes Metab* 2019;21:1066-1070
- [100] Kildegaard J, Buckley ST, Nielsen RH, Povlsen GR, Seested T, Ribel U, et al. Elucidating the mechanism of absorption of a fast-acting insulin aspart. The role of niacinamide. *Pharm Res* 2019;36:49
- [101] Moyers JS, Zhang C, Siesky AM, Cox AL, Sperry AE, Hansen RJ, et al. Explication of the mechanism of accelerated absorption for a novel insulin lispro formulation. *Diabetes* 2017;66 (Suppl 1):A250
- [102] Pratt E, Leohr J, Heilmann C, Johnson J, Landshulz W. Treprostinil causes local vasodilatation, is well tolerated, and results in faster absorption of insulin lispro. *Diabetes* 2017;66 (Suppl 1): A253
- [103] Klaff L, Cao D, Dellva MA, Tobian J, Miura J, Dahl D, et al. Ultra rapid lispro improves postprandial glucose control compared with lispro in patients with type 1 diabetes: results from the 26-week PRONTO-T1D study. *Diabetes Obes Metab* 2020;22:1799-1807
- [104] Blevins T, Zhang Q, Frias JP, Jinnouchi H, Chang AM, for the PRONTO-T2D Investigators. Randomized double-blind clinical trial comparing ultrarapid lispro with lispro in a basal-bolus regimen in patients with type 2 diabetes: PRONTO-T2D . *Diabetes Care* 2020;49:1991-2998
- [105] Jorgensen S, Vaag A, Langkaer L, Hougaard P, Markussen J. NovoSol basal: pharmacokinetics of a novel soluble long acting insulin analogue. *BMJ* 1989;299:415-419
- [106] Kohn WD, Micanovic R, Myers SL, Vick AM, Kahl SD, Zhang L, et al. pi-shifted insulin analogs with extended in vivo time action and favorable receptor selectivity. *Peptides* 2007;28:935-948
- [107] Bolli GB, Owens DR. Insulin glargine. *Lancet* 2000;356:443-445

- [108] Zeumen S, Stahl R, Jungmann E, Zoltobrocki M, Schöffling K, Caspary WF. In vitro activity of biosynthetic human diarginylinsuline. *Diabetologia* 1990;33:65-71
- [109] Heinemann L, Linkeschova R, Rave K, Hompesch B, Sedlak M, Heise T. Time action profile of the long-acting analog insulin glargine (HOE901) in comparison with those of NPH insulin and placebo. *Diabetes Care* 2000;23:644-649
- [110] European Medicines Agency. Assessment report: Abasria: 26 June 2014 (First published 14/10/2014).[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Public\\_assessment\\_report/human/002835/wc500175383.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002835/wc500175383.pdf)
- [111] Linnebjerg H, Lam EC, Seger ME. Comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of LY2963016 insulin glargine and EU-and US-approved versions of Lantus insulin glargine in healthy subjects: three randomized euglycemic clamp studies. *Diabetes Care* 2015;38:2226-2233
- [112] Schloot NC, Hood RC, Corrigan SM, Panck RL, Heise T. Concentrated insulins in clinical practice. *Diabetes Res Clin Pract* 2019;148:93-101
- [113] De la Pena A, Seger M, Doon D, Scott AJ, Reddy SR, Dobbins MA, et al. Bioequivalence and comparative pharmacodynamics of insulin lispro 200 U/mL relative to insulin lispro (Humalog®) 100 U/mL. *Diabetes Care* 2011;34:2496-2501
- [114] De la Pena A, Riddle M, Morrow LA, Jiang HH, Linnebjerg H, Scott A, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of high-dose human regular insulin U-500 versus human regular U-100 insulin in healthy obese subjects. *Diabetes Care* 2011;34:2496-2501
- [115] Rosenstock J, Cheng A, Ritzel R, Bosnyak Z, Devisme C, Cali AMG. More similarities than differences testing insulin glargine 300 units/mL in insulin-naïve type 2 diabetes: the randomized head-to-head BRIGHT trial. *Diabetes Care* 2018;41:2147-2154
- [116] Philis-Tsimikas A, Klonoff DC, Khunti K, Bajaj H, Leiter LA, Hansen MV, et al on behalf of the CONCLUDE Study Group. Risk of hypoglycaemia with insulin degludec versus insulin glargine U300 in insulin-treated patients with type 2 diabetes: the randomised head-to-head CONCLUDE trial. *Diabetologia* 2020;63:698-710
- [117] Tibaldi J, Hadley-Brown M, Liebl A, Haldrup S, Sandberg V, Michael LW, et al. A comparative effectiveness study of degludec and insulin glargine 300 U/ml in insulin-naïve patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2019;21:1001-1009
- [118] Brunner GA, Sendlhofer G, Elemer M, Sogaard B, Siebenhofer A, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamics profiles of long-acting insulin analogue NN304 in comparison to NPH insulin in humans. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2000;108:100-105
- [119] Heise T, Nosek L, Bottcher SG, Hastrup H, Haahr H. Ultra-long-acting insulin degludec has a flat and stable glucose-lowering effect in type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2012;14:944-950
- [120] Kurtzhals P. Engineering predictability and protraction in a basal insulin analogue: the pharmacology of insulin detemir. *Int J Obes* 2004;28 (Suppl 2): S23-S28
- [121] Jensen MH, Wahlund PO, Toft KN, Jacobsen JK, Sreensgaard DB, van de Weert M, et al. Small angle X-ray scattering-based elucidation of the self-association mechanism of human insulin analogue Lys B29 (N<sup>ω</sup>-carboxyheptadecanoyl)des(B30). *Biochemistry* 2013;52:282-294
- [122] Steengaard DB, Schluckebier G, Strauss HM, Normann M, Thomsen JK, Friderichsen AV, et al. Ligand-controlled assembly of hexamers, dihexamers, and linear multihexamer structures by the engineered acylated insulin degludec. *Biochemistry* 2013;52:295-309
- [123] Jonassen J, Havelund S, Ribel U. Design of the novel protraction mechanism of insulin degludec, an ultra-long-acting basal insulin. *Pharm Res* 2012;29:2104-2114

- [124] Unnikrishnan AG, Bantwal G, Sahay RK. Translating structure to clinical properties of an ideal basal insulin. *J Assoc physicians India* 2014;62:15-20
- [125] Bergenstal RM, Bailey TS, Rodbard D, Ziemien M, Guo H, Muehlen-Bartmer I, et al. Comparison of insulin glargine 300 units/mL and 100 units/mL in adults with type 1 diabetes: continuous glucose monitoring profiles and variability using morning or evening injections. *Diabetes Care* 2017;40:554-560
- [126] Monnier L, Wojtuszczyz A, Molinari N, Colette C, Renard E, Owens D. Respective contributions of glycemic variability and mean daily glucose as predictors of hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes care* 2020;43:821-827
- [127] Riddle MC, Bolli GB, Ziemien M, Bartmer IM, Bizet F, Home P, et al. New insulin glargine 300 units/mL versus glargine 100 units/mL in people with type 2 diabetes using basal and mealtime insulin: glucose control and hypoglycemia in a 6-month randomized controlled trial (EDITION 1). *Diabetes Care* 2014;37:2755-2762
- [128] Yki-Järvinen H, Bergenstal R, Ziemien M, Wardecki M, Muehlen-Bartmer I, Boelle E, et al. New insulin glargine 300 units/mL versus glargine 100units/mL in people with type 2 diabetes using oral agents and basal insulin: glucose control and hypoglycemia in a 6-month randomized controlled trial (EDITION2). *Diabetes Care* 2017;37:3235-3243
- [129] Bolli GB, Riddle MC, Bergenstal RM, Ziemien M, Sestakauskas K, Goyeau H, et al. New insulin glargine 300 U/ml compared with glargine 100 U/ml in insulin-naïve people with type 2 diabetes on oral glucose-lowering drugs: a randomized controlled trial (EDITION 3). *Diabetes Obes Metab* 2015;17:386-394
- [130] Home PD, Bergenstal RM, Bolli GB, Ziemien M, Rojeski M, Espinasse M, et al New insulin glargine 300 units/mL versus glargine 100 units/mL in people with type 1 diabetes: a randomized phase 3 a, open-label clinical trial (EDITION 4). *Diabetes Care* 2015;38:2217-2225
- [131] Bolli GB, Riddle MC, Bergenstal RM, Wardecki M, Goyeau H, Home PD, et al. Glycaemic control and hypoglycaemia with insulin glargine 300U/mL versus insulin glargine 100U/mL in insulin-naïve people with type 2 diabetes: a 12-month results from the EDITION 3 trial. *Diabetes Metab* 2017;43:351-358
- [132] Ratner RE, Gough SCL, Mathieu C; Del Prato S, Bode B, Mersebach H, et al. Hypoglycemia a risk with insulin degludec compared with insulin glargine in type 2 and type 1 diabetes: a pre-planned meta analysis of phase 3 trials. *Diabetes Obes Metab* 2013;15:175-184
- [133] Vora J, Cariou B, Evans M, Gross JL, Harris S, Landstedt-Hallin L, et al. Clinical use of degludec . *Diabetes Res Clin Pract* 2015;109:19-31
- [134] Garber AJ, King AB, Del Prato S, Sreenan S, Balei MK, Munoz-Torres M, et al. Insulin degludec, an ultra-long acting basal insulin, versus insulin glargine in basal-bolus treatment with mealtime insulin aspart in type 2 diabetes (BEGIN Basal-Bolus Type 2): a phase 3, randomised, open-label, treat-to-target non-inferiority trial. *Lancet* 2012;379:1498-1507
- [135] Heller S, Buse J, Fisher M, Garg S, Marre M, Merker L, et al. Insulin degludec, an ultra-long acting basal insulin, versus insulin glargine in basal-bolus treatment with mealtime insulin aspart in type 1 diabetes (BEGIN Basal-Bolus Type 1): a phase 3, randomised, open-label, treat-to-target non-inferiority trial. *Lancet* 2012;379:1489-1497
- [136] Marso SP, Mc Guire DK, Zinman B, Poulter NR, Emerson SS, Pieber NR. Efficacy and safety of degludec versus glargine in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2017;377:723-732

- [137] ORIGIN Trial Investigators; Gerstein HC, Bosch J, Dagenais GR, Diaz R, Jung H, Maggioni AP, et al. Basal insulin and cardiovascular and other outcomes in dysglycemia. *N Engl J Med* 2012;367:319-328
- [138] Hemkens LG, Grouven U, Bender R, Günster C, Gutschmidt S, Selke GW, et al. Risk of malignancies in patients with diabetes treated with insulin or insulin analogs in a cohort study. *Diabetologia* 2009;52:1732-1744
- [139] Nishimura E, Kjeldsen T, Hubalek F, Glendorf T, Stidsen CE, Hansen BOF, et al. Molecular and biological properties of insulin Icodec, a new insulin analog designed to give a long half-life suitable for once-weekly dosing. *Diabetes Metab* 2016;42:77-79
- [140] Monnier L, Owens DR, Bolli GB. The new long-acting insulin glargine U300 achieves an early steady state with low risk of accumulation. *Diabetes Metab* 2016;42:77-79
- [141] Rajeswari TS. Non invasive insulins; advanced insulin therapy over this decade. *J Appl Pharm Sci* 2011;1:12-20
- [142] Neumiller JJ, Campbell RK, Wood LD. A review of inhaled technosphere insulin. *Ann Pharmacother* 2010;44:1231-1239
- [143] Boss AH, Petrucci R, Lorber D. Coverage prandial insulin requirements by means of an ultra-rapid-acting inhaled insulin. *J Diabetes Sci Technol* 2012;6:773-779
- [144] Bode BW, Mc Gill JB, Lorber DL, Gross JL, Chang PC, Bergman DB, Affinity Study Group. Inhaled technosphere insulin compared with injected prandial insulin in type 1 diabetes: a randomized 24-week trial. *Diabetes Care* 2015;38:2266-2273
- [145] Rosenstock J, Franco D, Korpachev V, Shumel B, Ma Y, Baughman R, et al. Inhaled technosphere insulin versus inhaled technosphere placebo in insulin-naïve subjects with type 2 diabetes inadequately controlled on oral antidiabetic agents. *Diabetes Care* 2015;38:2274-2281
- [146] Galderizi A, Cohen N, Calhoun P, Kraemer K, Breton M, Weinzimmer S, et al. Effect of Afrezza on glucose dynamics during HCL treatment. *Diabetes Care* 2020;43:2146-2152
- [147] Leahy JL. Technosphere inhaled insulin: Is faster better? *Diabetes Care* 2015;2282-2284
- [148] Danne T, Heinemann L, Bolinder J. New insulins, biosimilars, and insulin therapy. *Diabetes Technol Ther* 2016;18 (Suppl 1):S43-S55
- [149] Reix N, Moreau F, Spizzo AH. Les insulines intelligentes: une nouvelle forme de pancreas artificiel. *Médecine des maladies Métaboliques* 2014 ;8 :141-146
- [150] Chou DH, Webber MJ, Tang BC, Lin AB, Thapa LS, Deng D, et al. Glucose responsive insulin activity by covalent modifications with aliphatic phenylboronic acid conjugates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112:2401-2406
- [151] Yu J, Zhang Y, Ye Y, DiSanto R, Sun W, Ranson D, et al. Microneedle array patches loaded with hypoxia-sensitive vesicles provide fast glucose-responsive insulin delivery. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112:8260-8265

## Légendes des figures

Figure 1 : Schéma général de la biosynthèse de l'insuline par la technologie de l' « ADN recombinant »

Le principe général repose sur l'introduction dans un plasmide bactérien (cercles oranges) de l'ADN de la protéine à synthétiser (chaînes A et chaînes B de l'insuline sur la partie de gauche et proinsuline sur la partie de droite représentés par les arcs de cercle bleus dans les cercles oranges). Après insertion du gène, les cellules bactériennes synthétisent la protéine. En se multipliant elles amplifient la synthèse. Les protéines sont ensuite récupérées. Si on utilise la voie de synthèse de l'insuline à partir de la synthèse séparée des 2 chaînes A et B (partie gauche de la figure) on doit reconstituer les ponts disulfures pour arriver à l'insuline finale. Si on utilise la voie de synthèse de l'insuline à partir de la proinsuline, (partie droite de la figure) on doit au terme du processus reconstruire les ponts disulfures pour aboutir à la proinsuline dans sa configuration spatiale normale et faire suivre cette reconstruction par un clivage enzymatique pour séparer l'insuline et le peptide C. L'ADN chromosomique des bactéries différent de l'ADN plasmidique est figuré en vert.

Figure 2 : Evolution au cours de la journée de la glycémie et de l'insulinémie chez des personnes qui ne sont pas diabétiques (d'après la référence 24)

Figure 3 : Chronologie du développement des insulines depuis la découverte de l'insuline jusqu'à nos jours. Plusieurs grandes périodes peuvent être individualisées

(a) période des insulines extraites de pancréas d'animaux (avant 1980)

(b) période des insulines biosynthétiques (technologie de l'ADN recombinant) précédée durant une courte période de 2 ans par celle des insulines humaines semi synthétiques.

(c) la période de l'application de la technologie de l'ADN recombinant à la biosynthèse des analogues courts et longs de l'insuline (d'après la référence 5)

Figure 4 : Structure de l'insuline. Les 2 chaînes A et B sont enroulées entre elles : 21 acides aminés pour la chaîne A et 30 pour la chaîne B. Les 2 chaînes sont reliées entre elles par 2 ponts disulfures entre les acides aminés A1-B7 et A20-B19. La chaîne A possède un pont disulfure interne entre A6 et A11.

Figure 5 : Acides aminés impliqués dans la liaison de l'insuline sur son récepteur et dans l'auto-association de l'insuline. Les ponts disulfures sont indiqués en traits pleins noirs. Les acides aminés qui servent à l'insertion des ponts disulfures A6, A7, A11, A20, B7 et B19 sont des résidus cystéine (acides aminés soufrés). Toutes les modifications qui touchent les acides aminés impliqués dans la liaison de l'insuline à son récepteur ou qui interviennent directement ou au voisinage des ponts disulfures peuvent perturber ou supprimer l'action de l'insuline. Ces acides aminés sont indiqués par un carré vert entouré par un trait pointillé.

Figure 6 : Schéma illustrant l'auto-association de l'insuline et le rôle des acides aminés en positions B28 et B29. Dans l'insuline normale les positions B28 et B29 sont occupées respectivement par la

proline et la lysine. La formation d'hexamères de l'insuline est due à la formation de ponts hydrogènes au niveau de l'acide aminé terminal de la chaîne B (position B30). La modification des acides aminés en B28 et B29 (par exemple inversion dans la lispro) empêche l'auto-association.

Figure 7 : Profils pharmacocinétique et pharmacodynamique (PK/PD) théoriques d'une préparation insulinique au cours d'un clamp euglycémique

La pharmacocinétique (courbe en rouge) est basée sur la mesure de la concentration insulinique de l'insuline à tester ;  $C_{max}$  = concentration maximum obtenue au temps  $T_{max}$  ; la demi-vie de la préparation ( $T_{1/2}$ ) est obtenue quand la concentration a diminué de moitié par rapport à la concentration maximum. La pharmacodynamie donne le profil d'action de la préparation de l'insuline à tester et sa durée d'action. Le GIR est le débit de glucose perfusé par unité de temps pour maintenir l'euglycémie (courbe en vert).

Figure 8 : Les profils pharmacocinétiques (PK) d'une préparation insulinique (courbe en bleue: A) explorent son absorption (résorption) dans le tissu cellulaire sous cutané et dans certains cas (insulines acylées) son transfert dans des compartiments intermédiaires (liaison à l'albumine plasmatique avant sa libération sous forme de monomères actifs). Ceci est lié au fait que la cinétique de l'absorption et de transfert sur l'albumine sont de l'ordre de plusieurs heures (A) alors que la cinétique des monomères après leur libération et avant leur fixation/utilisation au niveau des récepteurs cellulaires est uniquement de quelques minutes (B). Trois exemples sont donnés :

- 1) la glargine qui précipite et cristallise sous la peau
- 2) la dégludec qui est sous forme de di-hexamères avant injection et qui se « protracte » après injection pour donner des multi-hexamères.
- 3) la détémir qui est sous forme d'hexamères avant injection et qui se « protracte » après injection pour donner des di-hexamères.

Note : la dégludec et la détémir ont toutes deux en commun de se fixer sur l'albumine plasmatique avant leur libération sous forme de monomères actifs à vie courte.

Figure 9 : Profils d'action des différentes catégories d'insuline. La durée d'action est exprimée en heures. La courbe en trait plein correspond au profil d'action moyen. Les zones colorées entre les courbes en pointillé représentent la variabilité d'action des insulines qui sont l'objet de variations intra- et inter individuelles. Les heures indiquées sur l'axe horizontal correspondent aux heures de la journée à partir d'une injection qui serait réalisée à 20 heures.

Figure 10 : Bioconversion protéolytique par des endopeptidases et des carboxypeptidases de la proinsuline pour libérer l'insuline et le peptide C.

Figure 11 : Structure des insulines acylées . La détémir, la dégludec et l'icodec ont comme dénominateur commun l'insertion d'un acide gras sur l'acide aminé en B29, même si la longueur de la chaîne carbonée diffère d'une préparation à l'autre. Dans les trois préparations l'acide aminé en B30 a été supprimé. Les différences se situent au niveau du « spacer ». Pour l'icodec 3 acides aminés ont été l'objet de substitutions.

Figure 1

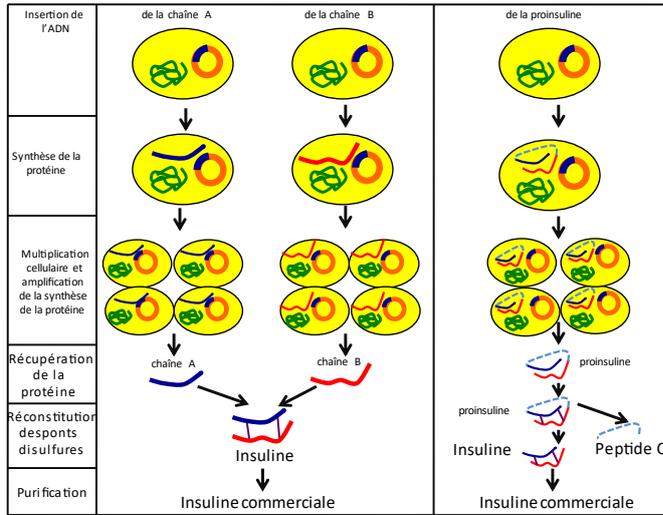


Figure 2

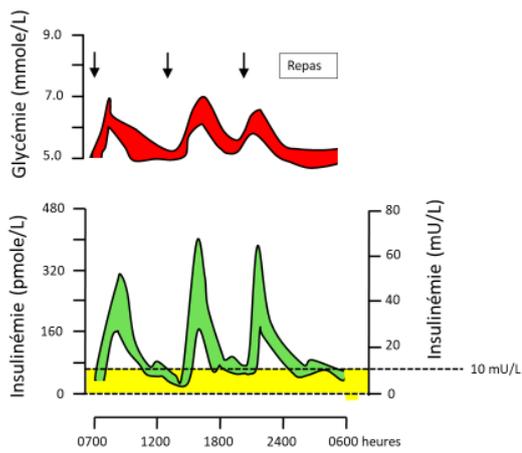


Figure 3

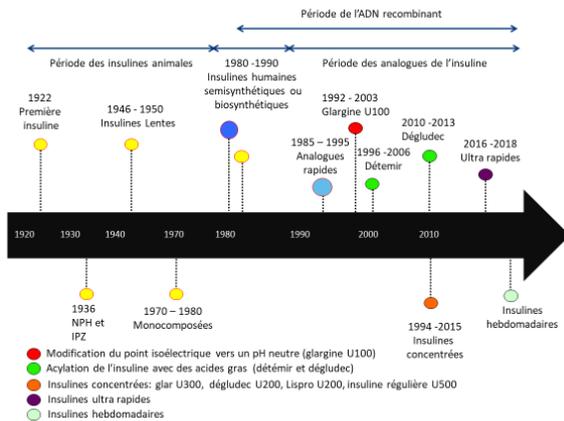


Figure 4

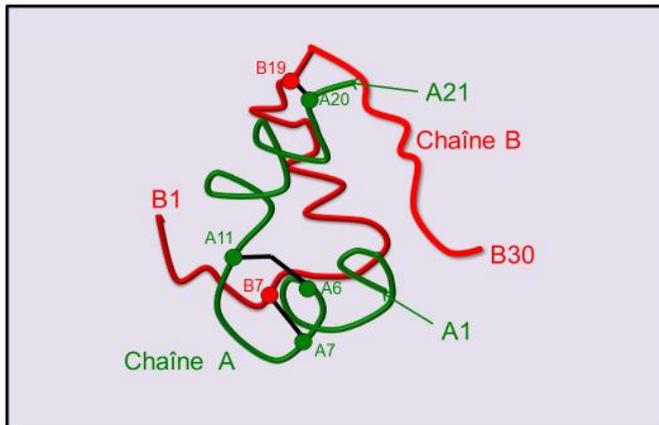


Figure 5

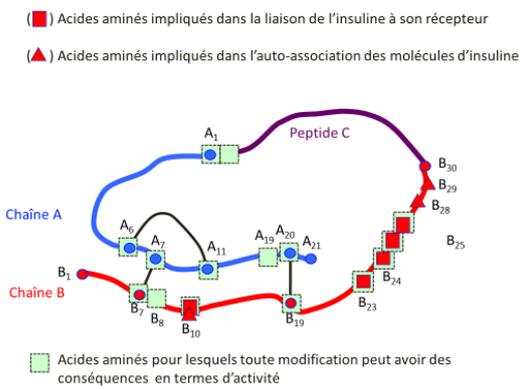


Figure 6

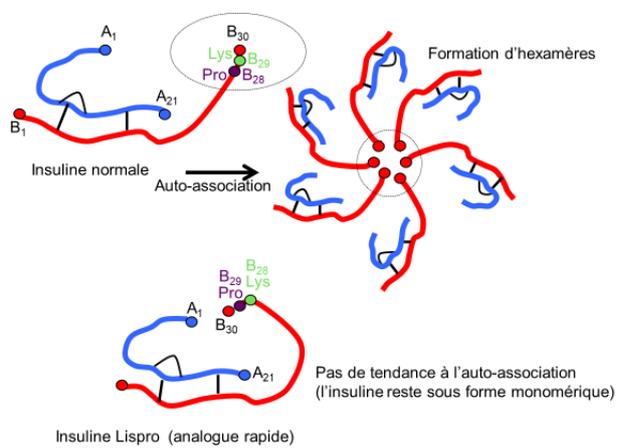


Figure 7

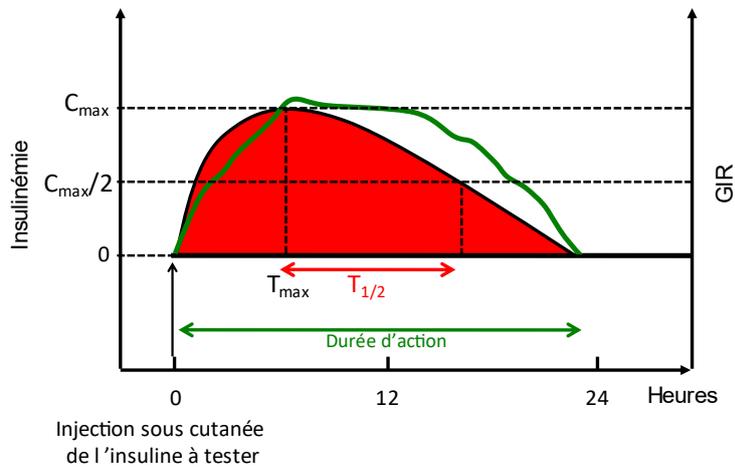


Figure 8

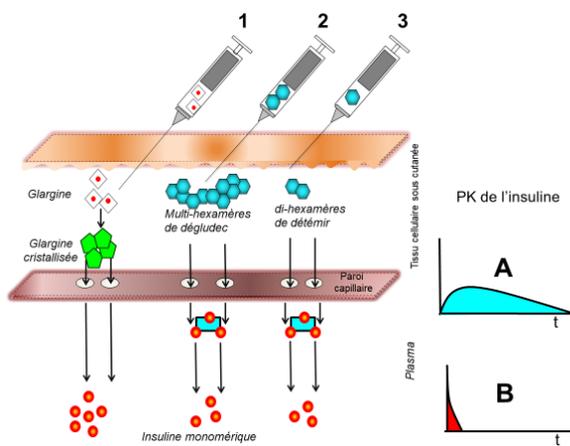


Figure 9

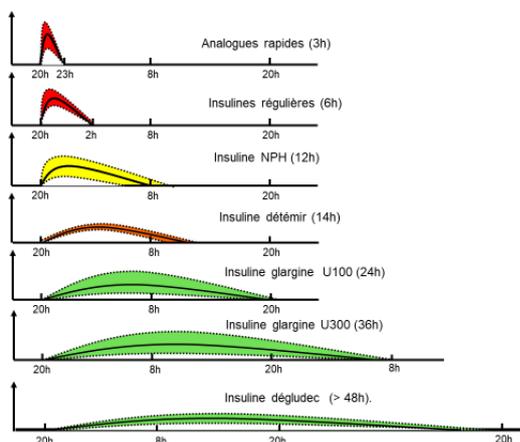


Figure 10

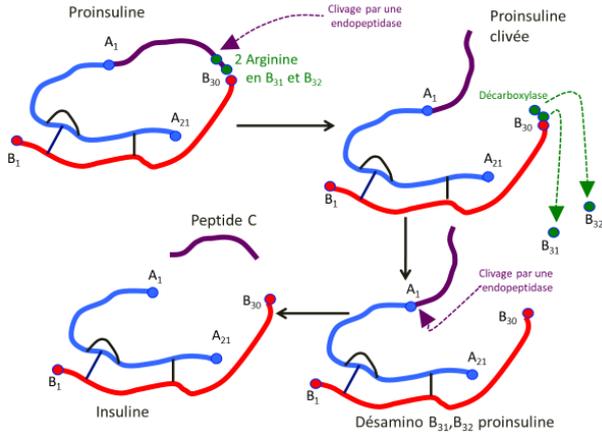


Figure 11

