

P0900482

16331

11

K i v o n a t

A találmány tárgya szájon át adható gyógyszerkészítmény, amely biotechnológiai úton előállított humán rekombináns inzulin és/vagy módosított inzulin vagy analógja és/vagy származéka, proteáz gátló és nagy molekulatömegű (természetes) fehérje kombinációját tartalmazza. A találmány a gyógyszerkészítmény előállítási eljárására is vonatkozik. A találmány tárgya továbbá a gyógyszerkészítmény alkalmazása és módszer a cukorbetegség kezelésére emlősen.

jellemező a lona Ø
Pentat

70300482

16331

2009 08 03

1

ELSŐBBSÉGI PÉLDÁNY

Szájon át adható gyógyszerkészítmény

A találmány tárgya szájon át adható gyógyszerkészítmény, amely biotechnológiai úton előállított humán rekombináns inzulin és/vagy módosított inzulin vagy analógja és/vagy származéka, proteáz gátló és nagy molekulatömegű (természetes) fehérje kombinációját tartalmazza. A találmány a gyógyszerkészítmény előállítási eljárására is vonatkozik. A találmány tárgya továbbá a gyógyszerkészítmény alkalmazása és módszer a cukorbetegség kezelésére emlősen.

A szájon át adható inzulin készítmény kifejlesztésekor két alapvető problémát kell megoldani: a peptid természetű inzulin lebomlásának megakadályozását, ill. az intestinális barrieren történő átjuttatását.

A szakirodalom szerint számos próbálkozás történt szájon át adható, inzulint tartalmazó gyógyszerkészítmények kifejlesztésére. Ezek a készítmények lényegében abban különböznek egymástól, hogy az inzulin mellett különböző anyagokat tartalmaznak az inzulin enzimatis inaktiválódásának megakadályozására, abszorpciójának és felszívódásának elősegítésére.

Az EP1454631 számú dokumentum olyan gyógyszerkészítményt ír le, amely terápiásan hatásos mennyiségű inzulint és kristályos dextrán mikrorészecskéket tartalmaz vizes szuszpenzióban. A készítménynek szabályozott inzulin kibocsátása van és lehet egyfázisú és több fázisú.

Az US1993005970 számú dokumentum egy oligomerhez kovalensen kötött inzulint tartalmazó gyógyszerkészítményről számol be.

A WO0033866 számú nemzetközi közzétételi iratban ismertetett gyógyszerkészítmény az inzulint nem-vizes hidrofil közegben tartalmazza, hosszú láncú PEG speciesekkel összekeverve, szuszpenzió formájában.

A WO9636352 számú nemzetközi közzétételi iratban olyan orális vagy nazális



alkalmazására alkalmas inzulin készítményt írnak le, amely legalább két abszorpciót elősegítő vegyületet, pl. Na-szalicilátot, Na-lauril-szulfátot, olajsavat, linolsavat, lecitint stb. tartalmaz.

Az US5438040 számú amerikai szabadalom tárgya olyan orálisan alkalmazható gyógyszerkészítmény, amely konjugált inzulin komplexet tartalmaz, ahol az inzulin kovelens kötással egy fiziológiailag kompatibilis polialkilén-glikol származékhoz kapcsolódik, amely stabil és vízben oldódik, ugyanakkor nem bomlik le az emésztőrendszerben.

A JP54028807 számú japán szabadalmi bejelentésben ismertetett készítmény additívként mucint tartalmaz és egy inzulináz inhibitor.

A WO0166085 számú nemzetközi közzétételi iratban leírt gyógyszerkészítmény inzulint, alkálifém-(8-22 szénatomszámú alkil)-szulfátot, oldószerként vizet vagy etanolt, egy fenol vegyületet, egy antioxidánst és proteáz inhibitor - pl. bacitracin, vagy származéka, szója tripszin vagy aprotinin - tartalmaz.

A WO9310767 számú nemzetközi közzétételi irat arra problémára ad megoldást, hogy bármely peptid típusú hatóanyag, amely enzimatikusan inaktiválódik a gyomor-bél traktusban alkalmazható legyen orális formában. Ezt a célt inzulin esetében úgy érik el, hogy az inzulint zselatin matrixba helyezik. A zselatin lehetővé teszi, hogy a hatóanyag vékony és vastagbélben úgy szívódik fel, hogy a nincs hosszú ideig kitéve a peptidáz bontó hatásának.

Az EP0127535 számú dokumentumban ismertetett gyógyszerkészítmény inzulint, epesavat és proteáz inhibitor tartalmaz. Az epesav elősegíti az abszorpciót, a proteáz inhibitor védi az inzulint a proteolizissal szemben. A készítmény orálisan adagolva gyorsan áthalad a gyomron, és a belekbe jutva felszabadul, és gyorsan felszívódik.

Az EP0351651 számú európai szabadalmi bejelentés orális és bukkális adagolásra alkalmas készítményt ismertet, amely inzulin mellett felszívódást elősegítő anyagként polioxi-etilén-glikol-karboxilsav-glicerid-észtert és vivőanyagot tartalmaz.

Az US3172814 számú amerikai szabadalomban ismertetett készítmény inzulint és anhidro-formaldehid-anilint tartalmaz, amely megakadályozza az inzulin hatásának csökkenését.

A WO2007121318 nemzetközi közzétételi irat szerinti készítmény inzulint és vivőanyagként 4-CNAB nátriumot tartalmaz, amelyeket együtt liofilizálnak, majd a kapott port tablettázzák, vagy zselatin kapszulába töltik.



A WO9843615 számú nemzetközi közzétételi irat szerint duzzadóképes hidrogél matrixot alkalmaznak, amely metakrilsav és polyalkilénglikol kopolimerje, és amely nem engedi felszabadulni az inzulint csak ha eléri a vékonybelet. A polimer gátolja a proteolitikus enzimek aktivitását is a bélben, és elősegíti, hogy az inzulin hosszú ideig aktív maradjon a felszívódást megelőzően.

Az eddig ismert készítményekre általában jellemző, hogy az inzulin biológiai hozzáférhetősége alacsony, csak kis mennyiségben szívódik fel a gasztrointesztinális traktusból, gyorsan lebomlik és nem hat a vér cukor szintre.

A találmány célja az eddig ismerteknél megfelelőbb biológiai hozzáférésű, szájon át adható inzulint tartalmazó gyógyszerkészítmény kifejlesztése.

A kitűzött célt inzulin, proteáz gátló anyag és nagy molekulatömegű természetes fehérje kombinációjával valósítottuk meg. Lényeges, hogy mind a proteáz gátló anyag, mind a fehérje rendelkezzen intestinális carrier berendezéssel, azaz mindkettő át tudjon jutni a bélfalon és a megfelelő szállító molekulákkal át tudja juttatni a peptid természetű inzulint is

A találmány szájon át adható gyógyszerkészítményre vonatkozik, amely biotechnológiai úton előállított humán rekombináns inzulin és/vagy módosított inzulin vagy analógja és/vagy származéka, proteáz gátló és nagy molekulatömegű természetes fehérje kombinációját tartalmazza.

A humán inzulin analóg, amelyben a B28 pozíció Asp, Lys, Leu, Val vagy Ala és a B29 pozíció Lys vagy Pro; vagy des(B28-B30), des(B27) vagy dws (B30) humán inzulin.

A találmány egy előnyös megvalósítási módja szerint a proteáz gátló ϵ -amino-kapronsav és a nagy molekulatömegű természetes fehérje kazein.

A találmány szerinti gyógyszerkészítmény 40 – 100 NE humán rekombináns inzulint, 100 – 1000 mg ϵ -amino-kapronsavat és 1 – 100 mg kazeint és a gyógyszerészetben használatos vivő és adalékanyagokat tartalmaz.

A találmány szerinti gyógyszerkészítmény (1 és 2 típusú) cukorbetegség kezelésére alkalmazható emlősben.

A találmány szerinti gyógyszerkészítmény különösen előnyösen alkalmazható terhességi cukorbetegség kezelésére is.



A találmány a biotechnológiai úton előállított humán rekombináns inzulin és/vagy módosított inzulin vagy analógja és/vagy származéka terápiásan hatásos mennyisége, ϵ -amino-kapronsav és kazein kombinációjának alkalmazására is vonatkozik, szájon át adható gyógyszerkészítmény előállítására, amely alkalmas (1 és 2 típusú) cukorbetegség kezelésére emlősben.

Továbbá a találmány tárgyát képezi a szájon át adható gyógyszerkészítmény előállítására szolgáló eljárás is, amely szerint 40 – 100 NE biotechnológiai úton előállított humán rekombináns inzulint és/vagy módosított inzulint vagy analógját és/vagy származékát, 100 – 1000 mg ϵ -amino-kapronsavat és 1 – 100 mg kazeint a gyógyszerészeti használatos vivő és adalékanyagokkal összekeverve szájon át adható dózisformává alakítunk.

A szájon át adható gyógyszerkészítmény lehet kapszula, tabletta vagy filmtabletta.

A találmány (1 és 2 típusú) cukorbetegség kezelésére szolgáló módszere is vonatkozik emlősben, amelynek megfelelően a páciensnek terápiás mennyiségben biotechnológiai úton előállított humán rekombináns inzulint és/vagy módosított inzulint vagy analógját és/vagy származékát, ϵ -amino-kapronsavat és kazeint tartalmazó, szájon át adható gyógyszerkészítményt adagolunk. Közelebbről a páciensnek 40 – 100 NE humán rekombináns inzulint, 100 – 1000 mg ϵ -amino-kapronsavat és 1 – 100 mg kazeint tartalmazó gyógyszerkészítményt adagolunk.

A találmány szerinti gyógyszerkészítményre jellemző, hogy a biológiai hozzáférése 30 % feletti.

Találmányunkat az 1 - 3. ábrák és a példákban ismertetett vizsgálatok eredményeinek segítségével mutatjuk be részletesebben.

1. ábra: Inzulin (100 μ M; natív) stabilitás ekvivalens mennyiségű inzulin/ ϵ -amino kapronsav (acepramin, Sigma, MO) jelenlétében α -chymotripsint (1,5 μ g/10 μ l) tartalmazó oldatban.
2. ábra: Egyszeri orális inzulin (10 IU/kg) vércukorszintre gyakorolt hatása streptozotocinnal (50 mg/kg i.v.) indukált diabetesben. Összehasonlítás subcutan inzulinnal (10 IU/kg). * szignifikáns különbség a kontrollhoz képest. ($p < 0.05$). $n=8$ csoportonként. Rövidítések: insoac1 (orális inzulin 1 mg/kg ϵ -amino-kapronsav mellett; insac10: orális inzulin 10 mg/kg ϵ -amino-kapronsav mellett;



insac100: orális inzulin 100 mg/kg ϵ -amino-kapronsav mellett; ins s.c.: subcutan inzulin.

3. ábra: Egyszeri orális inzulin (10 IU/kg) plazma inzulin immunoreaktivitásra gyakorolt hatása streptozotocinnal (50 mg/kg i.v.) indukált diabetesben .
Összehasonlítás subcutan inzulinnal (10 IU/kg). * szignifikáns különbség a kontrollhoz képest. ($p < 0.05$). $n=8$ csoportonként

Az 1. ábra adataiból kitűnik, hogy 120 perc elteltével a formulált inzulin 60 %-a intakt, míg a natív inzulin több mint 80 %-ban degradálódott.

A 2. ill. 3. ábra adatai bizonyítják, hogy a formulált orális inzulin inzulinhiányos diabetesben megemeli a plazma inzulin szintet, ill. hatékonyan csökkenti a vércukrot. A kísérletek alapján azonos standard inzulin (10 IU/kg mellett) mellett a 100 mg/kg ϵ -amino-kapronsav tartalom a 10 mg/kg-hoz viszonyítva nem jelent előnyt. Valószínű, hogy a subcutan inzulin „60 perces” értékei már lecsengő plazmakoncentrációs értéket jelentenek.

Példák:

1. példa: Orális inzulin alkalmazási lehetősége ϵ -amino-kapronsav vivőmolekula segítségével

A kísérletekhez hím Wistar patkányokat (Charles – River Laboratories, Budapest Magyarország) használtunk. A kísérletet megelőzően az állatokat 16 órán keresztül éhezettük. A kísérleteket reggel 8- 9 óra között kezdtük. Random módon 2 x 6 csoportot alakítottunk ki csoportonként 4 állattal. Az állatokat tápszondán keresztül a következő módon kezeltük elő: 1.) csoport: 1 g/kg ϵ -amino-kapronsavat; 2.) csoport: 0.1 U/kg inzulint; 3.) csoport: 0.1 U/kg inzulint és 1 g/kg ϵ -amino-kapronsavat, 4.) csoport: 1.0 U/kg inzulint; 5.) csoport: 1.0 U/kg inzulint és 1 g/kg ϵ -amino-kapronsavat; 6.) csoport oldószert kapott. Az egyik 6-os csoportnál a kezelést követően 15 perc múlva, a másikban 60 perc múlva levett artériás vérből meghatároztuk a vércukor és plazma inzulinszintet. A kapott eredményeket az 1. táblázat foglalja össze.

16331

1. táblázat

15 perces értékek

	Vércukor (mmol/l)	Plazma inzulin (μ U/ml)
Oldószer kezelt	5.52 ± 0.23	7.8 ± 2.31
1 g/kg ϵ -amino-kaprónsav	5.43 ± 0.55	7.3 ± 2.52
0.1 IU/kg inzulin	5.96 ± 0.21	10.75 ± 2.21
0.1 IU/kg inzulin + 1 g/kg ϵ -amino-kaprónsav	6.45 ± 0.53	15.85 ± 4.72
1.0 IU/kg inzulin	5.77 ± 0.22	38.25 ± 6.95
1.0 IU/kg inzulin + 1 g/kg ϵ -amino-kaprónsav	6.42 ± 0.36	24.57 ± 4.99

60 perces értékek

	Vércukor (mmol/l)	Plazma inzulin (μ U/ml)
Oldószer kezelt	5.41 ± 0.45	8.21 ± 1.98
1 g/kg ϵ -amino-kaprónsav	5.37 ± 0.15	7.76 ± 2.23
0.1 IU/kg inzulin	4.97 ± 0.40	10.8 ± 1.68
0.1 IU/kg inzulin + 1 g/kg ϵ -amino-kaprónsav	5.6 ± 0.08	10.3 ± 2.53
1.0 IU/kg inzulin	4.67 ± 0.41	23.87 ± 4.05
1.0 IU/kg inzulin + 1 g/kg ϵ -amino-kaprónsav	5.72 ± 0.43	28.12 ± 3.84

2. példa: Acepramin hatása az inzulin felszívódására standard kazein mellett.

Egészséges, hím Wistar patkányban (230-250 g) standard kazein mellett ϵ -amino-kaprónsav - humán rekombináns inzulin keveréket adtunk be intraduodenálisan. A mérés végpontja a glükóz oxidáz módszerrel mért vércukor, ill. a radioimmunoassay-vel mért plazma inzulin immunoreaktivitás volt 15, ill 60 perccel az inzulin-acepramin formuláció (vizes szuszpenzió) beadása után.

A kísérletek eredményeit a 2. táblázatban mutatjuk be:

16331

Adatok: átlag±S.D. n=8 mellett csoportonként. Statisztika: Bonferroni szerint módosított t-teszt, ANOVA-t követően.

2. táblázat

15. perc	Vércukor (mmol/l)	Plazma inzulin (μU/ml)
Oldószer	7.3 ± 0.34	15.9 ± 3.35
100 mg/kg ε-amino-kaprónsav	6.9 ± 1.41	17.1 ± 3.62
0.1 IU/kg inzulin	7.9 ± 0.92	14.4 ± 1.51
0.1 IU/kg inzulin + 100 mg/kg Acepramin	5.55 ± 0.71*	19.8 ± 1.7*
1.0 IU/kg inzulin	7.7 ± 2.31	27.5 ± 3.95*
1.0 IU/kg inzulin + 100 mg/kg ε-amino- kaprónsav	4.9 ± 0.86*	44.1 ± 4.52*
60. perc		
Oldószer	7.4 ± 0.52	14.8 ± 2.53
100 mg/kg ε-amino-kaprónsav	7.3 ± 0.95	16.7 ± 3.00
0.1 IU/kg inzulin	7.9 ± 0.83	17.3 ± 2.94
0.1 IU/kg inzulin + 100 mg/kg ε-amino- kaprónsav	6.1 ± 0.59*	21.4 ± 2.62*
1.0 IU/kg inzulin	6.9 ± 0.62	17.1 ± 2.06
1.0 IU/kg inzulin + 100 mg/kg ε-amino- kaprónsav	4.9 ± 0.43*	31.2 ± 2.79*
*: szignifikáns változás, p<0.05		
A csillaggal és kiemeléssel jelölt adatok mutatják, hogy az orális inzulin felszívódott és csökkentette a vércukorszintet.		



3. példa: In vitro” stabilitás

In vitro stabilitás alatt a primitíven formulált inzulin-acepramin keverék biodegradációját értékeltük fehérjebontó enzim jelenlétében, a natív inzulinnal történő összehasonlításban (reverz fázisú HPLC vizsgálatok eredménye).

3. példa: Biológiai hozzáférhetőség és hatékonyság experimentális diabetesben

Sprague-Dawley hím patkányokon (230-250 g) 50 mg/kg streptozotocin egyszeri intravénás adagolásával experimentális diabetest váltottunk ki. 10 nap elteltével a 15 mmol/l- nél magasabb éhgyomri (12 órás koplalás után) vércukorértékkel rendelkező állatokkal folytattuk a kísérleteket. Az állatok orális, ill. paranterális (s.c.) inzulint (10 IU/kg) kaptak, ezt követően mértük a vércukor szintet (2. sz. ábra adatai), ill. a plazma inzulin immunoreaktivitást (3 sz. ábra adatai).

A találmány szerinti gyógyszerkészítmény a subcutan alkalmazott inzulinnal a vércukorcsökkentő hatás tekintetében közel egyenértékű, alkalmas a kórosan emelkedett vércukorszint csökkentésére, cukorbeteg emlősök kezelésére.

A gyógyszerkészítmény a subcutan alkalmazott inzulinnal szemben inzulin érzékenyítő hatású.

A gyógyszerkészítmény eliminációs félideje kb. 40 perc patkányban

A gyógyszerkészítmény subchronikus toxicitást nem mutat.



Szabadalmi igénypontok

1. Szájon át adható gyógyszerkészítmény, azzal jellemezve, hogy biotechnológiai úton előállított humán rekombináns inzulin és/vagy módosított inzulin vagy analógja és/vagy származéka, proteáz gátló és nagy molekulatömegű természetes fehérje kombinációját tartalmazza.
2. Az 1. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, azzal jellemezve, hogy a humán inzulin analóg, amelyben a B28 pozíció Asp, Lys, Leu, Val vagy Ala és a B29 pozíció Lys vagy Pro; vagy des(B28-B30), des(B27) vagy dws (B30) humán inzulin.
3. Az 1. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, azzal jellemezve, hogy a proteáz gátló ϵ -amino-kapronsav.
4. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti gyógyszerkészítmény, azzal jellemezve, hogy a nagy molekulatömegű természetes fehérje kazein.
5. Az 1 - 4. igénypont bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény, azzal jellemezve, hogy 40 – 100 NE humán rekombináns inzulint, 100 – 1000 mg ϵ -amino-kapronsavat és 1 – 100 mg kazeint tartalmaz.
6. Biotechnológiai úton előállított humán rekombináns inzulin és/vagy módosított inzulin vagy analógja és/vagy származéka terápiásan hatásos mennyisége, ϵ -amino-kapronsav és kazein kombinációjának alkalmazása szájon át adható gyógyszerkészítmény előállítására, amely alkalmas (1 és 2 típusú) cukorbetegség kezelésére emlősbén.
7. Eljárás szájon át adható gyógyszerkészítmény előállítására, azzal jellemezve, hogy 40 – 100 NE biotechnológiai úton előállított humán rekombináns inzulint és/vagy módosított inzulint vagy analógját és/vagy származékát, 100 – 1000 mg ϵ -amino-kapronsavat és 1 – 100 mg kazeint a gyógyszerészeti használatos vivő és adalékanyagokkal összekeverve szájon át adható dózisformává alakítjuk.
8. Az 1 – 5. igénypontok bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény alkalmazása (1 és 2 típusú) cukorbetegség kezelésére emlősbén.
9. Az 1 – 5. igénypontok bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény alkalmazása terhességi cukorbetegség kezelésére.

16331

10. Módszer (1 és 2 típusú) cukorbetegség kezelésére emlősből, azzal jellemezve, hogy biotechnológiai úton előállított humán rekombináns inzulint és/vagy módosított inzulint vagy analógját és/vagy származékát, ϵ -amino-kapronsavat és kazeint tartalmazó, szájon át adható gyógyszerkészítményt adagolunk.
11. Módszer 1 típusú cukorbetegség kezelésére emlősből, azzal jellemezve, hogy 40 – 100 NE humán rekombináns inzulint, 100 – 1000 mg ϵ -amino-kapronsavat és 1 – 100 mg kazeint tartalmazó gyógyszerkészítményt adagolunk.
12. Az 1 – 5. igénypontok bármelyike szerinti gyógyszerkészítmény azzal jellemezve, hogy a biológiai hozzáférése 30 % feletti.

EMRI, PATENT KFT.
4032/Debreceen,
Kartács u. 36.

10 oldal
2 a'ra oldal.

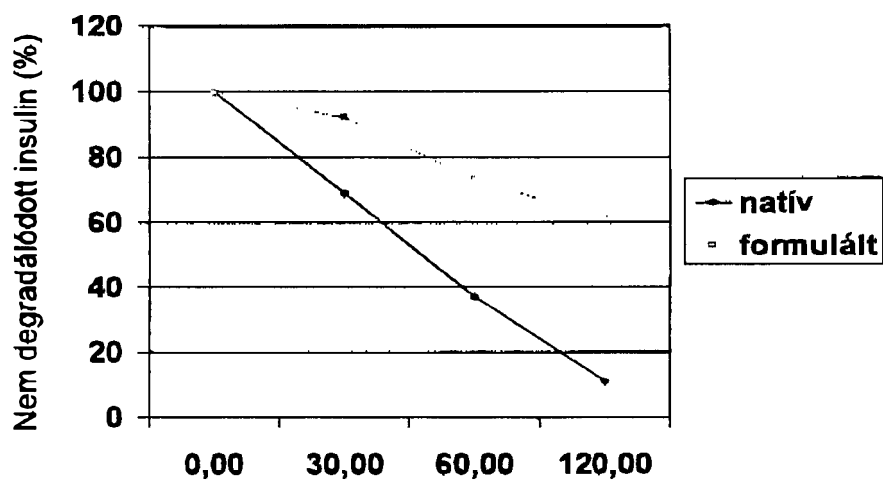
12 oldal
Bertu

P0900482

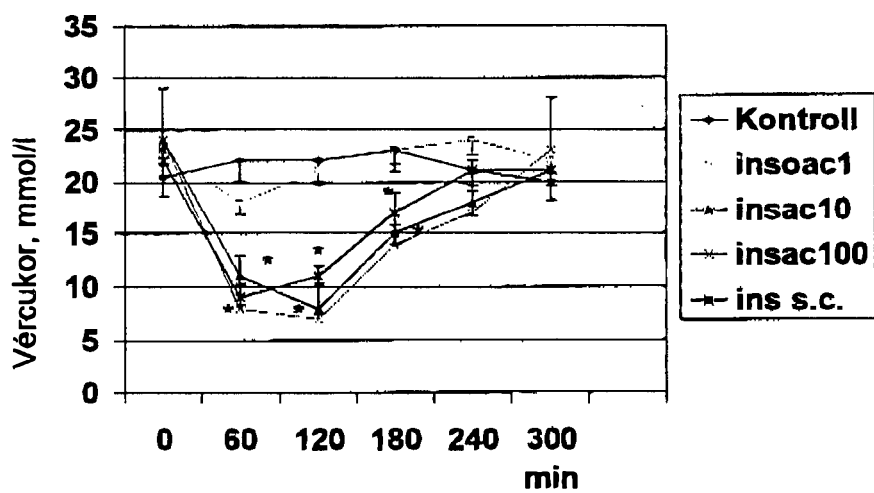
Elsőbbségi példány

160001

1/2



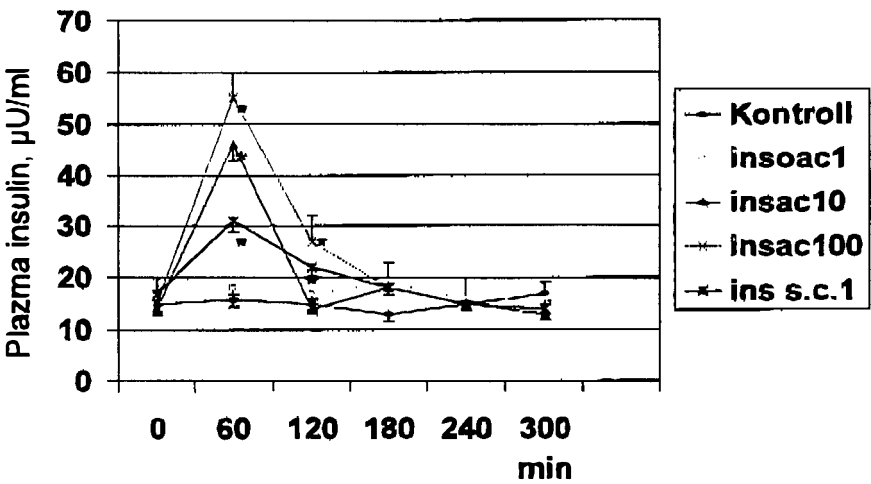
1. ábra



2. ábra

18331

2/2



3. ábra