

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication : **2 587 621**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national : **85 14267**

⑤① Int Cl⁴ : A 61 K 37/26, 37/18, 31/20.

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 26 septembre 1985.

③③ Priorité :

④③ Date de la mise à disposition du public de la
demande : BOPI « Brevets » n° 13 du 27 mars 1987.

⑥⑥ Références à d'autres documents nationaux appa-
rentés :

⑦① Demandeur(s) : *Entreprise dite : VEB BERLIN-CHEMIE,
Entreprise de droit allemand. — DD.*

⑦② Inventeur(s) : Joachim Kossowicz, Karl Milde, Regine
Hildebrandt et Annedore Steinicke.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : Cabinet Madeuf.

⑤④ Procédé pour la fabrication de préparations pharmaceutiques de peptides présentant une capacité de résorption
accrue.

⑤⑦ Procédé pour la fabrication de préparations pharmaceuti-
ques de peptides présentant une capacité de résorption ac-
crue, caractérisé en ce qu'on ajoute à l'agent actif, dans une
proportion de 1 à 10 % de la masse, des produits de conden-
sation d'acides gras albuminiques (AGA), réalisés par conden-
sation de produits d'hydrolyse de la glutine avec des acides
gras de C₈ à C₁₈.

FR 2 587 621 - A1

La présente invention est relative à l'utilisation de substances biologiquement actives ayant une structure de peptides, qui sont appliquées, sous forme de préparations appropriées, en médecine humaine et
5 vétérinaire, sur les muqueuses, pour y être résorbées.

Pour l'application des peptides biologiquement actifs en médecine humaine et vétérinaire, il est souvent impossible de renoncer à l'injection, car les autres modes d'administration ne donnent pas de résultats suf-
10 fisants.

L'administration des substances biologiquement actives par voie rectale ou vaginale s'effectue surtout, comme on le sait, au moyen de supports de médicaments ayant une forme déterminée, c'est-à-dire de ce qu'on
15 appelle des suppositoires, qui sont constitués par une matière oléophile ou hydrophile. Ces supports de médicaments présentent la propriété de fondre dans la cavité du corps dans laquelle ils ont été introduits et, en fondant, de libérer la substance active qui doit se
20 résorber dans la muqueuse. Le mécanisme de la fusion du support de médicament dépend de la structure chimique de ce support. La libération de la substance active s'effectue en fonction des conditions irrégulières de la fusion. Il s'y ajoute souvent que la résorption de
25 la substance active par la muqueuse n'est généralement ni dirigée ni très efficace. C'est ainsi, par exemple, que pour l'administration par voie rectale de l'insuline, qui est un représentant typique du groupe des substances biologiquement actives ayant une structure de peptides,
30 la quantité nécessaire à l'obtention de l'effet d'hypoglycémie est cent fois supérieure à celle qui est nécessaire en cas d'injection intraveineuse.

Les résultats sont aussi décevants en ce qui concerne l'efficacité de l'insuline administrée sous
35 forme de gouttes dans le nez, les oreilles ou les yeux

ou par pulvérisation dans le nez.

Pour remédier à ces inconvénients, on a envisagé l'utilisation de produits tensio-actifs ou de mélanges de produits tensio-actifs comme agents de résorption pour l'administration d'insuline. Les agents tensio-actifs doivent intensifier la résorption de la substance active par la muqueuse, ce qui accélère l'entrée en action du médicament, et augmente son taux d'efficacité. Il faut donc que les agents tensio-actifs utilisés pour cette application satisfassent à des exigences très strictes. Il faut que leur toxicité soit extrêmement faible, qu'ils n'irritent absolument pas la muqueuse, qu'ils n'exercent aucune influence nocive sur le milieu naturel des bactéries des muqueuses, qu'ils ne donnent avec le médicament aucune réaction chimique qui en altérerait l'efficacité, qu'ils soient compatibles avec le support de médicament et que, s'ils sont utilisés dans des suppositoires, ils ne provoquent pas d'irrégularités de fusion ou d'inhomogénéités quelconques.

Les composés qui doivent satisfaire à ces exigences, se classent aussi bien parmi les agents tensio-actifs anioniques et cationiques que parmi les agents tensio-actifs non ionogènes et ampholytiques. Par exemple, le brevet DE 2 641 819 préconise l'utilisation d'acides biliaires et de leurs sels alcalins, d'éther alcoyl et alcoyl phénol-polyglycol et d'agents tensio-actifs cationiques, anioniques et ampholytiques, notamment,

en ce qui concerne les deux derniers groupes d'agents tensio-actifs cités, des agents tensio-actifs provenant d'acides aminés (alcoyl- et alcoylaminoacides).

Le brevet US 4 164 573 préconise, pour la même utilisation, des stéarates d'oxyde de polyéthylène, la lécithine, des dérivés des acides aminés et des acides biliaires, de même que leurs dérivés et leurs sels.

Parmi ces groupes d'agents tensio-actifs, ce

sont les agents tensio-actifs dérivés des acides aminés qui s'avèrent, à tout prendre, les moins toxiques et les plus compatibles avec les muqueuses.

Le brevet DE - OS 3 018 843 indique cependant
5 qu'en ce qui concerne la résorption du peptide insuline, les dérivés d'acides aminés des structures les plus variées n'ont qu'une faible efficacité et que leurs sels n'en ont aucune.

Il s'y ajoute que les acides aminés n'ont qu'une
10 compatibilité restreinte avec les bases de suppositoires lipophiles, ce qui limite fortement leur utilisation dans les suppositoires.

Le but de l'invention est la mise au point d'un agent de résorption des substances biologiquement actives
15 pour une administration à travers les muqueuses qui ne soit pas toxique, puisse être supportée facilement par les muqueuses, ne provoque aucune inhomogénéité dans les supports de médicaments et assure l'efficacité biologique de la substance active à une vitesse com-
20 parable à celle avec laquelle agissent les injections par piqûres.

Ce but est atteint, suivant l'invention, du fait que l'on a constaté le fait surprenant et inattendu que des condensats d'acides gras albuminiques (AGA),
25 comme ceux que l'on obtient par condensation d'hydrolysates de glutine avec des acides gras supérieurs de poids moléculaire élevé, contenant de C₈ à C₁₈, de préférence de C₁₂ à C₁₈, suivie d'une purification comme celle dont le principe est indiqué par le brevet
30 DD 104 793, donnent les meilleurs résultats comme agents de résorption de peptides biologiquement actifs et, par conséquent, permettent d'atteindre le but de l'invention.

L'expérience a montré qu'un agent de résorption
35 AGA obtenu de cette manière donne, avec des supports

- de médicaments oléophiles et hydrophiles pour suppositoires, comme par exemple le résupol (R), la gélatine et le polyéthylglycol, des solutions complètement homogènes qui, même après refroidissement des suppositoires et après stockage au froid pendant quatre semaines à - 10°, ne présentent aucun phénomène de ségrégation. Des essais sur l'animal ont montré à plusieurs reprises, dans des conditions permettant de considérer ce résultat comme scientifiquement généralisable et suffisamment établi, que les AGA du type décrit présentent une compatibilité avec les muqueuses qui est supérieure à celle de tous les autres agents tensio-actifs, même à celle des alcoylsarcosides et peuvent être considérés pratiquement comme non toxiques.
- 15 L'invention permet de rendre biologiquement utilisables des peptides biologiquement actifs, comme, par exemple, l'insuline, en solution aqueuse aussi bien que sur une base de suppositoire oléophile et hydrophile, pour assurer une résorption rapide et très complète sans actions secondaires telles qu'irritation des muqueuses et réactions dues à une allergie.
- 25 L'effet surprenant que les AGA exercent, comme agents de résorption de peptides biologiquement actifs pour la résorption par voie muqueuse, est décrit ci-dessous dans le cas d'une administration rectale et nasale d'insuline à des lapins et à des chiens. On a obtenu un abaissement rapide de la glycémie, dont l'évolution dans le temps est équivalente à celle que l'on obtient par injection sous-cutanée de vieille insuline.
- 30 Le contrôle d'efficacité a été fait en déterminant le taux de glucose dans le sang et de l'insuline radio-immunologiquement réactive dans le sang.
- 35 L'effet inattendu des AGA peut s'expliquer par l'association, propre à ces produits, des propriétés tensio-actives et d'analogies de structure de la partie

hydrophile des AGA et des peptides biologiquement actifs ainsi qu'au fait qu'ils sont structurés à partir de substances contenues dans l'organisme vivant. Pour les essais sur l'animal, les suppositoires ont été introduits dans le rectum, d'une manière connue, à 7 cm de profondeur pour le lapin et à 10 cm environ pour le chien. L'application nasale a été effectuée au moyen d'un pulvérisateur de parfumerie du commerce.

Les animaux utilisés pour ces essais étaient des lapins mâles ayant un bon métabolisme, non narcotinisés, appartenant aux races chinchilla et "bélier allemand" ainsi qu'à des produits de ces races avec des lapins-lièvres, le poids de ces animaux étant d'environ 4 kg, ainsi que des Beagle-Ruden de 1 à 1,5 ans, élevés sur place, ayant un bon métabolisme et pesant de 10 à 12 kg.

Tous les animaux ont été préparés à une sensibilité normale à l'insuline. Pendant les 18 heures précédant les essais ils ne recevaient aucune nourriture ; par contre, eau à volonté.

On a utilisé des suppositoires de 2,0 g à base de rosupol (R) produit par le VEB DHW Rodleben et de l'insuline en cristaux standardisée d'origine porcine produite par le VEB Berlin-Chemie à une concentration de 16 VT par suppositoire pour les lapins et à une concentration de 50 VT par suppositoire pour les chiens. La concentration des AGA variait de 1 à 10 % de la base du suppositoire. A titre de comparaison, on a utilisé des suppositoires d'insuline de composition analogue, mais sans AGA.

L'application nasale a été faite avec une solution acide de 48 UT/ml d'insuline d'origine porcine standardisée, dans un domaine de pH de 2,5 à 4,7 et pour une concentration d'AGA de 0,5 à 10 % par rapport à la solution prête.

La détermination de l'insuline radioimmunologiquement réactive (détermination de l'IRI) dans le sang a été effectuée avec les appareils d'essai sur l'insuline Rotop classiques en utilisant de l'insuline J₁₂₅.

- 5 Les prises de sang ont été effectuées toutes les 10 minutes après l'administration de l'insuline au moyen d'une canule en plastique introduite dans la veine du bord de l'oreille. Parallèlement à la détermination de l'IRI, on a effectué une détermination du glucose
- 10 dans le sang d'une manière enzymatique suivant la méthode 2, AB/RDA en utilisant l'appareil classique Fermognost pour la mesure de la glycémie (méthode A). L'extinction de la solution colorée a été déterminée pour la longueur d'onde 530 γ par comparaison avec
- 15 une valeur témoin.

- La concordance des valeurs mesurées pour l'IRI avec les valeurs de l'abaissement du taux de glucose dans le sang était extraordinairement bonne, ce qui montre que l'abaissement du taux de glucose est dû
- 20 fondamentalement à la résorption de l'insuline aussi bien dans le cas de l'administration par voie rectale que dans le cas de l'administration par voie nasale.

- La comparaison avec des animaux auxquels on avait donné des suppositoires ne contenant pas d'AGA
- 25 met en évidence un abaissement significatif de la glycémie chez les animaux soumis aux essais puis traités au moyen de suppositoires à insuline contenant des AGA.

- On a constaté que l'action surprenante des AGA sur l'absorption d'insuline est fonction de la concentration de l'AGA introduit.
- 30

L'invention est décrite ci-dessous d'une manière plus détaillée au moyen d'exemples.

EXEMPLES

1. Administration d'insuline à des chiens par voie rectale

Suppositoire : 4,17 mg d'insuline, 50,00 mg d'AGA
Rosupol U ad 2,00 g

5

Déroulement des essais :

A cinq chiens du lot défini, d'un poids de 10,9 à 12,0 kg, on a donné les suppositoires dans des conditions telles que chaque animal a reçu une dose d'insuline de
10 2,0 UI/kg. A un autre chien, on a donné des suppositoires ayant la même concentration en insuline, mais ne contenant pas d'AGA.

Résultats :

15 Les chiffres du tableau indiquent le taux de glycémie en % rapporté à la valeur qu'il avait avant l'administration de l'insuline.

	No de l'animal	Au bout de	1	2	3	4	5	heures
20	1		40	34	52	73	120	
	2		46	35	50	68	111	
	3		39	39	48	64	105	
	4		45	33	49	63	107	
	5		52	45	64	64	112	
25		X	44	37	53	66	111	
		+	5	5	7	4	6	
	6	Animal témoin	122	110	87	91	105	

2. Administration d'insuline à des lapins par voie rectale

30

Suppositoire : 0,66 mg d'insuline, 100,0 mg d'AGA
Rosupol U ad 2,00 g

Déroulement des essais :

- A quatre animaux du lot défini, on a administré les suppositoires dans des conditions telles que les animaux ont reçu 2 UI/kg de leur poids. A deux animaux témoins
- 5 on a donné des suppositoires ayant la même concentration d'insuline, mais sans AGA.

Résultats :

- Les chiffres du tableau se lisent comme dans le cas
- 10 précédent.

No de l'animal		Au bout de	10	20	30	40	50	60mn
15	1		101	49	52	53	57	53
	2		84	61	60	65	63	58
	3		80	49	41	43	47	47
	4		98	84	94	80	64	75
		$\bar{X}$	91	60	62	60	58	58
20		$\pm$	10	16	23	16	8	12
	5	Animal témoin	130	145	161	145	130	121
	6	Animal témoin	110	128	140	141	145	147
	7	Animal témoin	98	95	114	118	114	120
		$\bar{X}$	113	123	138	135	130	127
		$\pm$	16	25	24	15	16	17

	No de l'animal	Au bout de	70	80	90	100	110	120mn
5	1		27	56	63	60	65	65
	2		61	61	--	88	87	--
	3		54	51	59	74	77	85
	4		75	74	65	68	96	90
		X	54	61	62	72	81	80
10		+	20	10	3	12	14	13
	5	Animal témoin	120	115	121	125	130	135
	6	Animal témoin	110	115	119	135	146	150
	7	Animal témoin	128	120	117	120	116	114
		$\bar{X}$	119	117	119	127	131	133
15		+	9	3	2	7	15	18

Valeurs de niveau d'IRI dans le sérum en ng/ml

	No de l'animal	Au bout de	10	20	30	40	50	60mn
20	1		30	30	30	32	16	12
	2		30	30	26	10	8	5
	3		30	30	16	13	7	6
	4		30	30	15	8	9	8
25								
30								

3. Administration d'insuline à des chiens par voie nasale

Solution : 20,00 mg d'insuline cristallisée,
300,00 mg d'AGA

5 Addition d'eau doublement distillée 10,00 ml
pH 4,5

Déroulement des essais :

A trois chiens d'un poids d'environ 11 kg, on a administré cette solution par vaporisation dans le nez, de telle manière que chaque animal a reçu intégralement une quantité de 1 UI par kg de son poids. A un animal témoin, on a administré la solution sans AGA.

Résultats :

15	No de l'animal	Au bout de	0,5	1	1,5	2	5 heures
	1		88	72	95	118	95
	2		92	65	90	79	84
	3		66	62	96	113	89
		-					
		X	67	66	94	103	89
20		+					
		-	14	5	4	21	6
	4	Animal témoin	106	123	106	109	97

REVENDICATIONS

Procédé pour la fabrication de préparations pharmaceutiques de peptides présentant une capacité de résorption accrue, caractérisé en ce qu'on ajoute à l'agent actif, dans une proportion de 1 à 10 % de la

5 masse, des produits de condensation d'acides gras albuminiques (AGA), réalisés par condensation de produits d'hydrolyse de la glutine avec des acides gras de C_8 à C_{18} .