



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 292 382 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) A 61 K 37/26

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD A 61 K / 338 431 1	(22)	06.03.90	(44)	01.08.91
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	siehe (73)
(72)	Wolf, Ingrid, Dr. rer. nat., DE
(73)	Berlin-Chemie AG, Glienicker Weg 125, O - 1199 Berlin, DE

(54)	Verfahren zur Herstellung eines parenteral applizierbaren lagerbeständigen immunstimulierenden Präparats
------	--

(55) Immunstimulator; Splenopentin, parenteral applizierbar; lagerungsbeständig; pH-Pufferung; Lösungsvermittler; Hydroxybenzoesäureester; Lyophilisation

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines stabilen, flüssigen bzw. lyophilisierten Präparates zum Einsatz als Immunstimulator in der Humanmedizin. Das Präparat wird bei einem pH-Wert zwischen 6 und 8 durch Kombination von Splenopentin bzw. Splenopentinanloga mit einem Hydroxybenzoesäureester hergestellt und zeichnet sich durch eine verbesserte und verlängerte Stabilität aus.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung eines parenteral applizierbaren lagerbeständigen immunstimulierenden Präparates, **dadurch gekennzeichnet**, daß eine auf einen pH-Wert zwischen 6,0 und 8,0 gepufferte wäßrige oder lösungsmittelhaltige Splenopentin- bzw. Splenopentinanalogonlösung mit einer auf 90°C bis 95°C erwärmten wäßrigen Hydroxybenzoesäureesterlösung versetzt und nach üblicher pharmazeutischer Technologie sterilisiert und abgefüllt bzw. lyophilisiert wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Peptid Diacetylsplenopentinhydrochlorid in einer Konzentration von 1 bis 100 mg/ml verwendet wird und der Hydroxybenzoesäureester in Konzentrationen von 0,1 bis 10 mg/ml eingesetzt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Peptidlösung mit üblichen pharmazeutisch und pharmakologisch geeigneten Puffersubstanzen auf einen pH-Wert von 6,5 bis 7,5 gepuffert wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Mischungsverhältnis von Peptidlösung und Hydroxybenzoesäurelösung 1:1 bis 10:1, vorzugsweise 5:1 ist.
5. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Lösung als organisches Lösungsmittel Propylenglycol und/oder Ethanol hinzugefügt wird.
6. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Lösung 1% bis 10% eines Lyophilisationsvehikels, bevorzugt Mannitol oder Alanin, hinzugefügt und anschließend bei Temperaturen bis 30°C lyophilisiert wird.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines zur parenteralen Applikation geeigneten lagerungsbeständigen Präparates zur Immunstimulierung. Sie findet Anwendung in der pharmazeutischen Industrie.

Indikationsgebiete des Präparates sind

- Immundefizit bei HIV-/AIDS-Patienten;
- Wiederherstellung der Funktionsfähigkeit des Immunsystems bei Krebspatienten nach Chemo- bzw. Strahlentherapie;
- Immunparalyse bei Organtransplantation;
- Wiederherstellung der Funktionsfähigkeit des Immunsystems nach Knochenmarktransplantation;
- Rheumatoide Arthritis;
- Psoriasis mit starker Gelenkbeteiligung.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Peptide sind insbesondere in wäßrigen Lösungen in der Regel instabil. Die Hydrolyse der Peptidbindungen führt zur Spaltung des Moleküls in unwirksame Peptidbruchstücke. Höhere Temperaturen führen insbesondere in Gegenwart von Wasser zur Denaturierung und damit zum Auftreten von Ausfällungen, die eine parenterale Applikation unmöglich machen. In Abhängigkeit von der Aminosäuresequenz des Peptides sind jeweils umfangreiche Versuche notwendig, um eine individuelle optimale Rezeptur zu entwickeln, die eine ausreichende Stabilität des Präparates im Verwendbarkeitszeitraum gewährleistet.

Splenopentin und Analoga sind ebenso wie andere Peptide instabil. Entsprechend Monographie und pharmazeutischen Gutachten ist für Diacetylsplenopentinhydrochlorid eine sehr kühle, vor Licht und Feuchtigkeit geschützte Aufbewahrung bereits für die Substanz vorgeschrieben. Erfahrungsgemäß verschlechtert sich die Stabilität in Gegenwart von Wasser oder bei der Lyophilisierung.

Lagerungsstabile parenteral applizierte Präparate mit immunstimulierender Wirkung auf der Basis von Splenopentin bzw. seiner Analoga sind bisher nicht bekannt.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die Herstellung eines stabilen parenteral applizierbaren Präparates mit immunstimulierender Wirkung auf der Basis von Splenopentin bzw. Splenopentinanaloga.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die technische Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Verfügung zu stellen, um Splenopentin bzw. Splenopentinanaloga als Immunstimulator durch geeignete Zusätze und Bedingungen in eine parenteral applizierbare lagerungsbeständige Lösung zu überführen.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß unter Einsatz von Splenopentin bzw. Splenopentinanaloga unter Vermeidung des Fällungsbereiches ein pH-Bereich zwischen 6,0 und 8,0, vorzugsweise von 6,5 bis 7,5, eingestellt wird als Peptid vorzugsweise Diacetylsplenopentinhydrochlorid in einer Konzentration von 1 bis 100 mg/ml eingesetzt wird und als Stabilitätspromotoren auf 90°C bis 95°C temperierte wäßrige Lösungen von Hydroxybenzoesäureestern in einem

Mischungsverhältnis 1:1 bis 10:1, vorzugsweise 5:1, eingesetzt werden. Das Peptid wird in 0,1 Mol/l Natronlauge gelöst und anschließend mit der auf 90°C bis 95°C temperierten Hydroxybenzoesäurelösung versetzt. Nach der pH-Wert-Einstellung wird die Lösung über 0,2-µm-Membranfilter steril filtriert und unter aseptischen Bedingungen in 2-ml-Ampullen abgefüllt. Der Hydroxybenzoesäureester wird vorzugsweise in einer Konzentration von 0,1 bis 10 ml eingesetzt.

Die nach dieser Verfahrensweise hergestellten Peptidpräparate zeigen eine gute Stabilität und ermöglichen so auch eine parenterale Anwendung.

Der Einsatz von Hydroxybenzoesäureestern als Lösungsmittel und -stabilisator für Peptide ist neu, der Erfolg durchaus überraschend.

Die erfindungsgemäße Lösung ermöglicht es, die Stabilität einer wässrigen Lösung und eines entsprechenden Lyophilisates so zu verbessern, daß keine Einschränkung der Aufbewahrungsvorschriften mehr erforderlich sind und die resultierenden Lösungen sogar parenteral applizierbar sind.

Die für den Wirkstoff vorgeschriebene Einschränkung der Aufbewahrungsbedingungen (sehr kühle Lagerung und Schutz vor Feuchtigkeit) entfällt.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

In 600 ml 0,02 Mol/l Phosphorsäure werden 27 g Diacetylsplenopentinhochlorid gelöst. Durch einen Überschuß an Natriumhydroxid wird zunächst ein pH-Wert von 8,0 bis 9,0 eingestellt. Nach 20 min Rühren wird mit 0,02 Mol/l Phosphorsäure auf pH 7,5 eingestellt. In 300 ml Wasser zur Injektion werden 1,5 g Hydroxybenzoesäuremethylester bei 90°C bis 95°C gelöst und sofort und unter Rühren mit dem Ansatz vereinigt.

Es erfolgt eine Feineinstellung des pH-Wertes auf 6,9–7,1. Anschließend wird der Ansatz auf 1 l aufgefüllt, über 0,2-µm-Membranfilter sterilfiltriert und unter aseptischen Bedingungen konfektioniert.

Beispiel 2

In 500 ml Wasser zur Injektion werden 27 g Splenopentinhochlorid gelöst. Der pH-Wert der Lösung wird zunächst mit Meglumin auf 8,0 bis 9,0 und nach 20 min Rühren mit 1 Mol/l Salzsäure auf pH 7,5 eingestellt. In 200 ml Wasser zur Injektion werden 0,75 g Hydroxybenzoesäurepropyloster bei 90°C bis 95°C gelöst und sofort unter Rühren mit der Peptidlösung vermischt. Nach der Zugabe von 200 g Propylenglycol wird der Ansatz auf 1 l aufgefüllt, über 0,2-µm-Membranfilter sterilisiert und unter aseptischen Bedingungen abgefüllt.

Beispiel 3

20 g Diacetylsplenopentinhochlorid werden in 450 ml 0,05 Mol/l Natronlauge gelöst. Anschließend werden 50 g Alanin eingetragen.

In 450 ml Wasser zur Injektion werden 1,5 Hydroxybenzoesäuremethylester bei 90°C bis 95°C gelöst und sofort mit der Peptidlösung vermischt. Nach 20minütigem Rühren wird der pH-Wert mit Salzsäure auf pH 7,5 eingestellt und das Volumen mit Wasser zur Injektion auf 1 l ergänzt.

Die über Membranfilter sterilfiltrierte Injektionslösung wird unter aseptischen Bedingungen in Injektionsflaschen abgefüllt und bei Temperaturen bis 25°C lyophilisiert.