



POLSKIEJ RZECZYPOSPOLITEJ LUDOWEJ OPIS PATENTOWY

Nr 41178

Kl. 30 h, 2/04

Roskilde Medical Company Ltd (R.M.C.)
Danske Andelsslagteriers Konserverfabrik A.m.b.A.
 Roskilde, Dania

Sposób wytwarzania insuliny cynkowej o zwiększonej zawartości cynku

Patent trwa od dnia 4 sierpnia 1954 r.

Pierwszeństwo: 19 sierpnia 1953 r. dla zastrz. 1-4 (Dania)

Znane jest wytwarzanie insuliny o zwiększonej zawartości cynku zarówno krystalicznej jak i bezpostaciowej przez wprowadzenie insuliny do środowiska wodnego o $\text{pH}=6-7$, w którym jest ona trudno rozpuszczalna i które zawiera sól cynkową i ewentualnie dodatek do 8% wagowych acetonu, w celu rozpuszczenia bezpostaciowej insuliny i ułatwienia jej krystalizacji.

Znane jest również przygotowywanie zawiesin lub roztworów do zastrzyków z insuliny cynkowej jak i insuliny globinowej, protaminowej, metyloalbuminowej o różnych zawartościach cynku, wychodząc przy tym z insuliny bezpostaciowej lub krystalicznej.

W środowisku wodnym o pH odpowiadającym pH krwi produkt jest trudno rozpuszczalny i dlatego nadaje się do zastosowania w leczeniu, gdy pożądaną jest opóźniona działość insuliny. Zawiesinę cząsteczek insuliny bezpostaciowej lub krystalicznej o zwiększonej zawartości cynku, (rozpuszczającą się nieznacznie przy pH orga-

nizmu i dlatego słabo resorbowaną) można stosować bezpośrednio do zastrzyków. Roztwór może być izotoniczny z krwią.

Stwierdzono, że można wytwarzać insulinę cynkową praktycznie z ilościową wydajnością, jeżeli na bezpostaciową lub krystaliczną insulinę będzie się działało w organicznym środowisku np. w środowisku słabych zasad organicznych, fenoli, krezoli, kwasów organicznych, jak lodowatego kwasu octowego, kwasu mlekowego, glikolowego, propionowego lub mrówkowego, alkoholi jedno- lub wielowodorotlenowych lub ich związków i pochodnych jak estrów i eterów, ketonów i chlorowców lub tio-pochodnych wymienionych substancji, związkami cynku rozpuszczonymi w jednym lub kilku z wymienionych środków.

Według wynalazku korzystne jest, aby roztwory związków cynku w wymienionych środkach, zawierały wodę.

Również korzystna jest praca w środowisku, w którym insulina rozpuszcza się, przy czym insulinę stosuje się w roztworze jednej lub kilku z wymienionych substancji.

Nadto według wynalazku korzystne jest doprowadzenie insuliny do reakcji z jednym ze wspomnianych roztworów cynku w postaci stałej przez zawieszenie jej w roztworze. Krystaliczne lub bezpostaciowe cząstki insuliny łączą się z łatwością z rozpuszczonymi związkami cynku.

Jeżeli pracuje się w środowisku wodnym wówczas korzystne jest dodanie substancji takiej jak np. NH_3 — NH_4Cl , w celu nie dopuszczenia do wytrącenia się wodorotlenku cynkowego.

Cały proces można przeprowadzić oczywiście w warunkach sterylnych.

Sposobem według wynalazku, w przeciwieństwie do dotychczasowych metod, można w sposób niezawodny i prosty kontrolować ilość cynku związaną przez insulinę, a zwłaszcza można otrzymać produkt o zwiększonej zawartości cynku.

Zwykła insulina zawiera taką ilość grup karboksylowych, że można przyłączyć maksymalnie 2,72% cynku w stosunku do ilości insuliny. W preparatach otrzymanych sposobem według wynalazku prawdopodobnie część cynku przyłączona jest do grup karboksylowych, podczas gdy ewentualny nadmiar cynku połączony jest w inny sposób z insuliną, ponieważ w sposobie według wynalazku nie może tworzyć się wodorotlenek cynku.

Do nadającej się do zastrzyków zawiesinę insuliny cynkowej, można według wynalazku dodać jony cynku, wapnia lub magnezu.

Przykład I. 1 g insuliny wprowadza się do 100 ml absolutnego alkoholu etylowego zawierającego w 1 ml 5 mg cynku w postaci rozpuszczalnej soli cynkowej.

Powstałą zawiesinę miesza się przez dwie godziny, po czym krystaliczny osad odfiltruje się, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Kryształy zawierają około 5% cynku.

Kryształy można oddzielać również przez odwirowanie.

Przykład II. 1 g krystalicznej insuliny wprowadza się do 100 ml absolutnego alkoholu etylowego zawierającego w 1 ml 2,5 mg cynku w postaci rozpuszczalnej soli cynkowej. Powstałą zawiesinę miesza się przez dwie godziny, po czym krystaliczny osad odfiltruje się, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Kryształy zawierają około 4,0% cynku.

Przykład III. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml absolutnego alkoholu etylowego zawierającego w 1 ml 0,5 mg cynku w postaci rozpuszczalnej soli cynkowej. Po dwu godzinach mieszania oddziela się kryształy jak wyżej, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Zawierają one około 3,5% cynku.

Przykład IV. Z 1 g insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml absolutnego alkoholu etylowego zawierającego w 1 ml 0,3 mg cynku w postaci rozpuszczalnej soli cynkowej. Po dwugodzinnym mieszanii oddziela się kryształy w sposób podany powyżej, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Zawierają one około 3% cynku.

Jeżeli w 1 ml alkoholu znajduje się tylko 0,1 mg cynku, wówczas otrzymuje się kryształy o zawartości około 1,5% cynku.

Przykład V. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 g stopionego, bezwodnego fenolu zawierającego 1% cynku w postaci ZnCl_2 . Po dwugodzinnym mieszanii dodaje się taką samą objętość alkoholu etylowego, oddziela kryształy w sposób podany powyżej, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Kryształy zawierają około 1,5% cynku.

Przykład VI. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml alkoholu benzylowego, zawierającego 20 mg cynku w postaci ZnCl_2 . Po dwugodzinnym mieszanii oddziela się kryształy w sposób powyżej podany, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Kryształy zawierają około 2% cynku.

Przykład VII. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml acetonu zawierającego w 1 ml 5 mg cynku w postaci rozpuszczalnej soli cynkowej. Po dwugodzinnym mieszanii oddziela się kryształy w sposób podany powyżej, przemywa acetonem i suszy. Kryształy zawierają około 5% cynku.

Przykład VIII. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml pirydyny, zawierającej w 1 ml 10 mg cynku, w postaci rozpuszczalnej soli cynkowej. Po dwugodzinnym mieszanii oddziela się kryształy w sposób podany powyżej, przemywa alkoholem i suszy. Kryształy zawierają około 3% cynku.

Przykład IX. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml lodowatego kwasu octowego, zawierającego w 1 ml 5 mg cynku w postaci rozpuszczalnej soli cynkowej. Po dwugodzinnym mieszanii oddziela się kryształy w sposób podany powyżej, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Kryształy zawierają około 5% cynku.

Przykład X. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml mieszaniny alkoholu i wody zawierającej 35% objętościowych alkoholu etylowego. Mieszanina zawiera w 1 ml 10 mg cynku w postaci chlorku cynkowego. Roztwór posiada $pH = 4,5$. Po dwugodzinnym mieszanii oddziela się kryształy w sposób podany powyżej, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Kryształy zawierają około 3,5% cynku.

Jeżeli mieszanina alkoholu i wody zawiera 20% objętościowych alkoholu etylowego oraz w 1 ml 1 mg cynku i jeżeli reakcja przebiega przy pH roztworu = 4,7, to kryształy insuliny zawierają około 1,7% cynku.

Przykład XI. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml mieszaniny alkoholu i wody, zawierającej 15% objętościowych alkoholu etylowego. Mieszanina zawiera w 1 ml 10 mg cynku w postaci chlorku cynkowego. Po dwugodzinnym mieszanii oddziela się kryształy w sposób podany powyżej, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Kryształy zawierają około 2% cynku.

Przykład XII. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml mieszaniny alkoholu i wody, zawierającej 50% objętościowych alkoholu etylowego. Mieszanina zawiera w 1 ml 10 mg cynku w postaci chlorku cynkowego. Do mieszaniny dodaje się roztworu NH_3 — NH_4Cl w celu uzyskania $pH = 7$. Po dwugodzinnym mieszanii oddziela się kryształy w sposób podany powyżej, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Kryształy zawierają około 7% cynku.

Przykład XIII. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml mieszaniny alkoholu i wody zawierającej 35% objętościowych alkoholu etylowego. Mieszanina zawiera w 1 ml 10 mg cynku w postaci chlorku cynkowego. Do mieszaniny dodaje się roztworu NH_3 — NH_4Cl w celu uzyskania $pH=7$. Po dwugodzinnym mieszanii oddziela się kryształy w sposób podany powyżej, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Kryształy zawierają około 5,5% cynku.

Przykład XIV. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml mieszaniny alkoholu i wody, zawierającej 15% objętościowych alkoholu etylowego. Mieszanina zawiera w 1 ml 10 mg cynku w postaci chlorku cynkowego. Do mieszaniny dodaje się roztworu NH_3 — NH_4Cl w celu otrzymania $pH=7$. Po dwugodzinnym mieszanii oddziela się kryształy w sposób podany powyżej, przemywa alkoholem etylowym i suszy. Kryształy zawierają około 5% cynku.

We wszystkich przytoczonych przykładach można zastosować insulinę bezpostaciową zamiast krystalicznej.

Przykład XV. Z 1 g krystalicznej insuliny sporządza się zawiesinę w 100 ml mieszaniny alkoholu i wody zawierającej 30% wagowych alkoholu etylowego. Mieszanina zawiera w 1 ml 2,3 mg cynku w postaci rozpuszczalnej soli cynkowej. pH środowiska wynosi 4,4. Insulina przechodzi częściowo do roztworu. Nierozpuszczoną część kryształów oddziela się przez odsączenie, przemywa alkoholem i suszy. Zawierają one 2,2% cynku. Przesącz doprowadza się do wartości $pH = 6,3$. Wytrąconą insulinę bezpostaciową, przemywa się alkoholem i suszy. Bezpostaciowa insulina zawiera około 4,5% cynku.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania insuliny cynkowej o zwiększonej zawartości cynku, znamienny tym, że na insulinę bezpostaciową lub krystaliczną działa się w środowisku organicznym, np. w środowisku słabych zasad organicznych, fenoli, krezoli, kwasów organicznych, alkoholi jedno- lub wielowodorotlenowych, lub ich związków albo pochodnych, ketonów, jak też w środowisku chlorowco- lub tło-pochodnych wymienionych związków, związkami cynku rozpuszczonymi w jednej lub kilku z wymienionych substancji.
2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że do roztworów związków cynku dodaje się wody.
3. Sposób według zastrz. 1 — 2, znamienny tym, że insulinę stosuje się w roztworze jednej lub kilku z wymienionych substancji, w którym jest ona rozpuszczalna.
4. Sposób według zastrz. 1 — 2, znamienny tym, że insulinę doprowadza się w postaci stałej do reakcji z jednym z wymienionych roztworów cynku.
5. Sposób według zastrz. 2, znamienny tym, że dodaje się substancji przeciwdziałającej wytrącaniu się wodorotlenku cynkowego.

Roskilde Medical Company
Ltd (R. M. C.)

Danske Andelsslagteriers
Konserverfabrik A. m. b. A.

Zastępca: Kolegium Rzeczników Patentowych