

(19) BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PATENT-SCHRIFT



(12) Ausschließungspatent

(11) **DD 286 509 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 / 330 177 E	(22)	30.06.89	(44)	31.01.91
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	Technische Universität Dresden, Direktorat Forschung BfSN, Mommsenstraße 13, O - 8027 Dresden, DE
(72)	Losse, Günthor, Prof. Dr. rer. nat. habil.; Müller, Frank, Dipl.-Chem.; Koßowicz, Joachim, Dipl.-Chem.; Haker, Elke, Dr. med. vet.; Trebesius, Helga, DE
(73)	Technische Universität Dresden, Direktorat Forschung BfSN, O - 8027 Dresden; VEB Berlin-Chemie, O - 1199 Berlin, DE

(54)	Verfahren zur Herstellung von aktivitätsstabilisierten, wirkungsverlängerten rektal applizierbaren Insulinpräparationen
------	--

(55) rektale Insulinpräparation; Polyaminosäure-Insulin-Komplexe; Diabetestherapie; Wirkungsverlängerung; Dosisersparung

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von aktivitätsstabilisierten, wirkungsverlängerten rektal applizierbaren Insulinpräparationen aus Komplexen zwischen Insulin und Polyaminosäuren, die in der Diabetestherapie Anwendung finden. Die erfindungsgemäße Aufgabe wird dadurch gelöst, daß die Polyaminosäure mit einem Insulinanteil von 50-60 % zusammen mit einem Resorptionsvermittler (1-5 % bezogen auf die Gesamtsuppositorienmasse) in hydrophilen Suppositorien eingesetzt wird. Vorteile der Erfindung sind, daß sich Dosisersparungen bei gleichzeitiger Wirkungsverlängerung erzielen lassen.

ISSN 0433-6461

3 Seiten

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von aktivitätsstabilisierten, wirkungsverlängerten, rektal applizierbaren Insulinpräparationen aus Komplexen zwischen Insulin und Polyaminosäuren, insbesondere Polyglycin oder Polylysin mit mittleren Molmassen von 2000–4000 und Gelatine oder Agar als Suppositoriengrundlage und Resorptionsvermittler, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Polyaminosäure mit einem Insulinanteil von 50–60 % und als Resorptionsvermittler Stearoyl-, Palmitoyl- oder Lauroylaminosäuren verwendet werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß 1–5 % des Resorptionsvermittlers, bezogen auf die Gesamtsuppositorienmasse, eingesetzt werden.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von insulinhaltigen Suppositorien für die Diabetestherapie mit verbesserten pharmakologischen Eigenschaften.

Charakterisierung des bekannten Standes der Technik

In der Patentschrift DD 257197 wird ein Verfahren zur Herstellung von immobilisierten, in ihrer biologischen Aktivität stabilisierten und in ihren pharmakologischen Eigenschaften modifizierten Insulinpräparationen beschrieben, deren wesentliches Merkmal die Komplexierung des Hormons mit Polyaminosäuren ist und sich für eine parenterale Anwendung eignet. Für den Einsatz dieser Insulin-Polyaminosäurekomplexe für rektal applizierbare Insulinpräparationen sind dabei zusätzliche, dieser Anwendungsform speziell angepaßte und nicht ohne weiteres erkennbare Voraussetzungen notwendig.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, ein Herstellungsverfahren zu entwickeln, das es ermöglicht, speziell rektal applizierbare Insulinpräparationen mit verbesserten pharmakologischen Eigenschaften zu gewinnen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Aufgabe der Erfindung ist es, ein Verfahren zur Herstellung von rektal applizierbaren Insulinpräparationen mit aktivitätsstabilisierten und wirkungsverlängerten Eigenschaften zu entwickeln. Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß Insulin-Polyaminosäurekomplexe mit einem Insulingehalt von 50–60 % und einer mittleren Molmasse der Polyaminosäuren Polyglycin oder Polylysin von 2000–4000 zur Anwendung gelangen, der jeweilige Komplex in einem hydrophilen, zur Wasseraufnahme befähigten Gel, wie z. B. Gelatine oder Agar unter Aufrechterhaltung neutraler pH-Werte dispergiert und dabei ein Mengenverhältnis eingehalten wird, das pro Suppositorium Dosen $\leq 2,5$ IE Insulin/kg Körpergewicht gewährleistet sind. Gleichzeitig wird dem Gesamtansatz der Suppositoriengrundlage 1–5 % eines Resorptionsvermittlers, insbesondere durch höhere Fettsäuren acylierte Aminosäuren, wie z. B. Stearoyl-, Palmitoyl- oder Lauroylaminosäuren zugesetzt.

Überraschend wurde dabei gefunden, daß nur innerhalb eines engen Bereiches der Variablen Beladungsgrad des Komplexes und der Konzentration des Resorptionsvermittlers sich durch den Immobilisierungs- und Stabilisierungseffekt des Komplexes gegenüber Suppositorien mit gleicher Rezeptur, jedoch mit freiem, nicht komplexiertem Insulin erhebliche Dosisersparung bzw. Wirkungsverlängerungen erzielen lassen. Dabei ist es charakteristisch für das Verfahren, daß sich die pharmakologischen Vorteile nur in der speziellen Kombination der beanspruchten Zusammensetzung erreicht werden und dadurch eine rektale, den speziellen klinischen Bedürfnissen der Diabetiker angepaßte Insulinapplikation ermöglicht wird.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

Zur Herstellung der Insulin-Polyglycin-Komplexe werden 1,9 g Polyglycin ($M = 4000$) in 57 ml 85%iger Ameisensäure bei 25°C suspendiert und 0,4 ml Insulinlösung (250 mg/ml 85%iger Ameisensäure) zugegeben. Nach 30minütigem Rühren wird der Komplex unter weiterem Rühren mit 380 ml absolutem Ether gefällt. Nach Absaugen des Komplexes wäscht man 5× mit 50 ml absolutem Ether und trocknet im Vakuum über P_2O_5 bei 1 Torr und 20°C bis zur Gewichtskonstanz. Die auf diese Weise hergestellten Insulin-Polyglycin-Komplexe enthalten laut Aminosäureanalyse 5 % Insulin. Zur Herstellung der insulinhaltigen Suppositorien wurde ein Gemisch von 7,5 g Glycerol sowie 8,9 g Citrat-Phosphat-Puffer (pH 7,5) vorgelegt, 9 g Gelatine eingerührt und 1 h bei Raumtemperatur zum Quellen stehen gelassen. Anschließend wird bei 60°C innerhalb von 30 Minuten homogenisiert, der Gewichtsverlust durch destilliertes Wasser ergänzt und auf 40°C abgekühlt. Der Ansatz wird mit 1,5 g Lauroylleucin homogen vermischt und 62,5 mg des Insulin-Polyglycin-Komplexes der Siebfraktion 0–160 µm in 3 ml Citrat-Phosphat-Puffer untergerührt und anschließend zu Suppositorien vergossen. Acht männlichen Kaninchen von etwa 4 kg Körpermasse, gleicher Rasse, wurden die Suppositorien so appliziert, daß jedes Versuchstier eine Insulindosis von 1,2 IE/kg

Körpergewicht erhielt. Den Kontrolltieren wurden Suppositorien gleicher Insulindosierung und Tensidkonzentration, jedoch ohne Komplexierung des Hormons appliziert. Die Blutglukosespiegelwerte wurden nach Normierung auf den Anfangsblutzuckerwert im Nüchternzustand mittels des Femognost-Blutzuckerbestecks bestimmt. Es ergab sich keine signifikante Verbesserung des Blutglukosesenkungsprofils gegenüber der Kontrollgruppe.

Beispiel 2

Entsprechend Beispiel 1 wird ein 20%iger Insulin-Polyglycin-Komplex durch Suspendieren von 165 mg Polyglycin ($M = 4000$) in 5 ml 85%iger Ameisensäure unter Zugabe von 0,16 ml Insulinlösung (250 mg/ml 85%iger Ameisensäure) hergestellt. 15,6 mg des so erhaltenen Komplexes werden in 3 ml Citrat-Phosphat-Puffer suspendiert und zusammen mit 1,5 g Lauroylleucin dem Gießansatz zugesetzt, homogen vermischt und anschließend zu Suppositorien vergossen. Bei einer Insulindosierung von 1,2 IE/kg ergab sich keine signifikante Veränderung des Blutglukosesenkungsprofils gegenüber der Kontrollgruppe.

Beispiel 3

Analog zu Beispiel 1 wurde ein 55%iger Insulin-Polyglycin-Komplex durch Suspendieren von 250 mg Polyglycin ($M = 4000$) in 7,5 ml 85%iger Ameisensäure unter Zugabe von 1,1 ml Insulinlösung (250 mg/ml 85%iger Ameisensäure) erhalten. 5,7 mg dieses Komplexes wurden dem Gießansatz wie unter Beispiel 1 zugesetzt und zu Suppositorien vergossen. Bei einer Insulindosierung von 1,2 IE/kg Körpergewicht ergab sich eine 3stündige Blutglukosesenkung um 40% mit Erreichen des Anfangsniveaus nach 5 Stunden. Die Kontrolltiere zeigten eine 1stündige Glukosesenkung um 30% mit Erreichen des Anfangsniveaus nach 2,5 Stunden.

Beispiel 4

11,4 mg eines 55%igen Insulin-Polyglycin-Komplexes und 300 mg Lauroylleucin wurden in Analogie zu Beispiel 1 dem Suppositorienansatz so zugesetzt, daß Suppositorien mit einer Dosierung von 10 IE Insulin erhalten wurden. Nach Applikation, bei einer Insulindosierung von 2,5 IE/kg Körpergewicht, zeigten die Versuchstiere eine 4stündige Blutglukosesenkung um 50% mit Erreichen des Anfangsniveaus nach 7 Stunden. Im Kontrollversuch ergab sich eine 45%ige Blutglukosesenkung über 2 Stunden mit dem Erreichen des Ausgangswertes nach 4 Stunden.

Beispiel 5

Zur Herstellung eines 55%igen Insulin-Polylysin-Komplexes wurden 450 mg Polylysin ($M = 4000$) in 20 ml destilliertem Wasser gelöst und der Lösung 560 mg Insulin zugegeben. Es wurde noch 30 Minuten gerührt und anschließend gefriergetrocknet. Der Insulingehalt des Komplexes wurde durch die Aminosäureanalyse bestätigt. 11,4 mg des so erhaltenen Komplexes wurden zusammen mit 300 mg Lauroylleucin dem Gießansatz zugesetzt und wie unter Beispiel 1 aufgearbeitet. Bei einer Insulindosierung von 2,5 IE/kg Körpergewicht zeigten die Versuchstiere eine 60%ige Blutglukosesenkung über 3 Stunden, wobei das Ausgangsniveau nach 6 Stunden wieder erreicht wurde. Der Kontrollversuch ist unter Beispiel 4 ausgewiesen.

Beispiel 6

Durch Suspendieren von 75 mg Polyglycin ($M = 4000$) in 2,5 ml 85%iger Ameisensäure und Hinzugeben von 0,7 ml Insulinlösung (250 mg/ml 85%iger Ameisensäure) wurde ein 70%iger Insulin-Polyglycin-Komplex erhalten. 8,9 mg dieses Komplexes wurden dem Gießansatz wie im Beispiel zugesetzt und Suppositorien mit einer Insulindosierung von 2,5 IE/kg hergestellt, die acht männlichen Kaninchen appliziert wurden. Es ergab sich keine Verbesserung des Blutglukosesenkungsprofils im Vergleich zur Kontrollgruppe.