(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 693 27 309 T3** 2007.07.05

(12) Übersetzung der geänderten europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 631 505 B2**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **693 27 309.7**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/DK93/00099**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **93 907 820.0**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1993/018786**
(86) PCT-Anmeldetag: **18.03.1993**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **30.09.1993**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **04.01.1995**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **15.12.1999**
(97) Veröffentlichungstag des geänderten Patents beim EPA: **29.11.2006**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **05.07.2007**

(51) Int Cl.[8]: ***A61K 38/26*** (2006.01)

(30) Unionspriorität:
36392 **19.03.1992** **DK**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:
Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, DK; Efendic, Suad, Lindingö, SE; Gutniak, Mark, Hässelby, SE

(74) Vertreter:
Patent- und Rechtsanwälte Bardehle, Pagenberg, Dost, Altenburg, Geissler, 81679 München

(72) Erfinder:
EFENDIC, Suad, S-181 34 Lindingö, SE; GUTNIAK, Mark, S-165 65 Hässelby, SE; KIRK, Ole, DK-2200 Copenhagen N, DK

(54) Bezeichnung: **VERWENDUNG EINES PEPTIDS**

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Gebiet der Erfindung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von GLP-1(7-37), und/oder GLP-1(7-36)amid zur Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Diabetes in einem Behandlungsplan, der zusätzlich die Behandlung mit einem oralen hypoglykämischen Mittel (Sulfonylharnstoffe) umfasst. Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Behandlung von Diabetes mittels Einsatz dieses Medikaments.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Diabetes ist gekennzeichnet durch einen beeinträchtigten Glucosemetabolismus, welcher sich unter anderem in einem erhöhten Blutglucosespiegel bei den Diabetespatienten manifestiert. Die zugrundeliegenden Defekte führen zu einer Klassifizierung von Diabetes in zwei Hauptgruppen: Diabetes Typ 1 oder insulinabhängige Diabetes mellitus (IDDM), welche entsteht, wenn Patienten einen Mangel an insulinerzeugenden β-Zellen in ihren Bauchspeicheldrüsen aufweisen, und Diabetes Typ 2 oder nicht-insulinabhängige Diabetes mellitus (NIIDDM), welcher bei Patienten auftritt, die eine beeinträchtigte β-Zellfunktion neben einem Spektrum anderer Anomalien aufweisen.

[0003] Patienten mit Diabetes Typ 1 werden gegenwärtig mit Insulin behandelt, während der Großteil der Patienten mit Diabetes Typ 2 entweder mit Mitteln behandelt wird, welche die β-Zellfunktion stimuliert, oder mit Mitteln, welche die Gewebesensitivität der Patienten für Insulin erhöhen.

[0004] Von den zur Stimulierung der β-Zellfunktion eingesetzten Mitteln werden diejenigen, welche auf den ATP-abhängigen Kaliumkanal von β-Zellen einwirken, bei der derzeitigen Therapie am häufigsten eingesetzt. Die sogenannten Sulfonylharnstoffe, wie z.B. Tolbutamid, Glibenclamid, Glipizid und Gliclazid, werden umfangreich eingesetzt und andere Mittel, wie z.B. AG-EE 623 ZW, die ebenfalls an dieser molekularen Stelle eingreifen, befinden sich in Entwicklung (AG-EE 623 ZW ist ein Firmencode für (S)-(+)-2-Ethoxy-4-[2-[[3-methyl-1-[2-(1-piperidinyl)phenyl]butyl]-amino]-2-oxoethyl]benzoesäure, einer in der europäischen Patent-veröffentlichung Nr. 147, 850 (von Dr. Karl Thomae GmbH) beschriebenen Verbindungen). Von den zur Erhöhung der Gewebesensitivität für Insulin eingesetzten Mitteln ist Metformin ein repräsentatives Beispiel.

[0005] Obwohl Sulfonylharnstoffe zur Behandlung von NIDDM in großem Umfang eingesetzt werden, ist diese Therapie in den meisten Fällen nicht zufriedenstellen: Bei einer großen Anzahl von NIDDM-Patienten reichen Sulfonylharnstoffe nicht aus, um die Blutzuckerspiegel zu normalisieren und die Patienten haben deshalb ein hohes Risiko, sich Diabeteskomplikationen zuzuziehen. Viele Patienten verlieren auch allmählich das Vermögen, auf eine Behandlung mit Sulfonylharnstoffen zu reagieren, und werden so langsam zu einer Insulinbehandlung gezwungen. Diese Umstellung von Patienten von oralen hypoglykämischen Mitteln auf Insulintherapie wird normalerweise einer Erschöpfung der β-Zellen bei NIDDM-Patienten zugeschrieben.

[0006] Im Laufe der Jahre wurden deshalb zahlreiche Versuche unternommen, neue Mittel bereitzustellen, welche die β-Zellfunktion stimulieren, um den NIDDM-Patienten eine verbesserte Behandlung zu bieten. Kürzlich wurde eine Reihe von Peptiden, die sich von dem Glucagon-ähnlichen Peptid-1 ableiten, als insulinotrope Mittel für die therapeutische Anwendung in Betracht gezogen.

[0007] Glucagon-ähnliches Peptid-1, auch als GLP-1 bezeichnet, ist eine Peptidsequenz, die im C-terminalen Abschnitt von Säuger-Proglucagon gefunden wurde. Vor 1985 wurde über keine bestimmte biologische Aktivität von GLP-1 berichtet. 1985 wurde jedoch demonstriert, dass das Amid eines GLP-1-Fragments, nämlich GLP-1(1-36)amid, die Insulinfreisetzung aus isolierten, vorkultivierten Ratten-Pankreasinseln in Anwesenheit von Glucose in dosisabhängiger Weise stimuliert (Schmidt, W.E., et al., Diabetologia 28 (1985) 704-7). Dieser Befund legt nahe, dass GLP-1(1-36)amid und verwandte Peptide zur Behandlung von Diabetes Typ 2 geeignet sein könnten. Aufgrund seiner wesentlich größeren Sequenzhomologie zu Glucagon und glukoseabhängigem insulinotropen Peptid, auch als GIP bezeichnet, äußerten Schmidt et al. die Ansicht, dass mit GLP-1(7-36) eine noch stärkere Glucagon- und/oder GIP-ähnliche Aktivität als mit dem intakten Peptid erwartet werden könnte. In den letzten Jahren konzentrierte sich das Interesse besonders auf die GLP-1-Fragmente GLP-1(7-37) und GLP-1(7-36)amid und Analoga und funktionelle Derivate davon. Die Bezeichnung GLP-1(1-36) zeigt an, dass das fragliche Peptidfragment die Aminosäurereste von (und einschließlich) Nr. 1 bis (und einschließlich) Nr. 36 umfasst, wenn vom N-terminalen Ende des Stammpeptids GLP-1 aus gezählt wird. Gleichermaßen zeigt die Bezeichnung GLP-1(7-37) an, dass das fragliche Fragment die Aminosäurereste von (und einschließlich) Nr. 7 bis (und einschließlich) Nr. 37 umfasst, wenn von dem N-terminalen Ende des Stammpeptids GLP-1 aus ge-

zählt wird. Die Aminosäuresequenz von GLP-1(7-36)-amid und von GLP-1(7-37) ist in Formel I angegeben:
His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-
Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gin-Ala-Ala-Lys-Glu-Phe-
Ille-Ala-Trp-Leu-Val-Lys-Gly-Arg-X (I)
welche GLP-1(7-36)amid darstellt, falls X NH_2 ist, und GLP-1(7-37), falls X Gly-OH ist.

[0008] Von Kreymann, B., et al., welche dieses Peptid gesunden Freiwilligen als Infusion verabreichten und eine signifikante Erhöhung des Plasmainsulins beobachteten (Lancet 2 (1987) 1300-304), wurde demonstriert, dass GLP-1(7-36)amid in der Tat ein insulinotropes Mittel beim Menschen ist.

[0009] Die insulinotrope Wirkung von GLP-1(7-37) sowohl bei diabetischen als auch bei nicht-diabetischen Versuchspersonen wurde von Nathan, D.M., et al., Diabetes Care 15 (1992) 270-76, demonstriert.

[0010] Die internationale Patentanmeldung Nr. WO 87/06941 (von The General Hospital Corporation) betrifft ein Peptidfragment, welches GLP-1(7-37) und funktionelle Derivate davon umfasst, und dessen Verwendung als insulinotropes Mittel.

[0011] Die internationale Patentanmeldung Nr. 90/11296 (von The General Hospital Corporation) betrifft ein Peptidfragment, welches GLP-1(7-36) und funktionelle Derivate davon umfasst und eine isulinotrope Aktivität aufweist, welche die insulinotrope Aktivität von GLP-1(1-36) oder GLP-1(1-37) übertrifft, und dessen Verwendung als insulinotropes Mittel.

[0012] Die internationale Patentanmeldung Nr. 91/11457 (von Buckley et al.) betrifft effektive Analoga der aktiven GLP-1-Peptide 7-34, 7-35, 7-36 und 7-37.

[0013] Die Wirkung von GLP-1(7-37) in Kombination mit Glibenclamid auf die Insulinektretion von Ratten-Pankreasinseln wurde in vitro von Parker, J.C., et al. untersucht Diabetes 40 (Suppl. 1) (1991) 237 A). Es wurde nur eine additive Wirkung der beiden Mittel beobachtet.

[0014] Jedoch wurde nach bestem Wissen der Erfinder die überraschende synergistische Wirkung in vivo, welche durch den komibierten Einsatz eines oralen hypoglykämischen Mittels und GLP-1(7-37) oder GLP-1(7-36)amid erreicht wird, bisher nicht offenbart.

Zusammenfassung der Erfindung

[0015] Die vorliegende Erfindung betrifft den überraschenden Befund, dass bei Verabreichung von GLP-1-verwandten Peptiden in Kombination mit oralen hypoglykämischen Mitteln im allgemeinen und mit Sulfonylharnstoffen im besonderen zur Behandlung von Diabetes Typ 2 eine synergistische Wirkung beobachtet wird. Diese überraschende Beobachtung wurde sogar bei Patienten mit Diabetes Typ 2 gemacht, die bei alleiniger Verabreichung von Sulfonylharnstoffen keine Reaktion zeigen.

[0016] Somit betrifft die vorliegende Erfindung in ihrem breitesten Aspekt die Verwendung von GLP-1(7-37), oder GLP-1(7-36)amid zur Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Diabetes Typ 2 in einem Behandlungsplan, der zusätzlich die Behandlung mit einem oralen hypoglykämischen Mittel, das ein Sulfonylharnstoff ist umfasst, welches ein Blocker des ATP-abhängigen Kaliumkanals auf β-Zellen ist, dadurch gekennzeichnet, dass die Verwendung bei der Behandlung von Diabetes Typ 2 bei einem Patienten mit Diabetes Typ 2, der keine Reaktion auf Sulfonylharnstoff zeigt, erfolgt.

[0017] In einer ersten bevorzugten Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung von GLP-1(7-37) oder GLP-1(7-36)amid zur Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Diabetes Typ 2 in einem Behandlungsplan, der zusätzlich die Behandlung mit einem oralen hypoglykämischen Mittel, das Sulfonylharnstoff ist, umfasst, welches ein Klocker des ATP-abhängigen Kaliumkanals auf β-Zellen ist, dadurch gekennzeichnet, dass die Verwendung bei der Behandlung von Diabetes Typ 2 bei einem Patienten mit Diabetes Typ 2, der keine Reaktion auf Sulfonylharnstoff zeigt, erfolgt.

[0018] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung von GLP-1(7-37) oder GLP-1(7-36)amid, zur Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Diabetes Typ 2 in einem Behandlungsplan, in dem das orale hypoglykämische Mittel Glibenclamid oder Glipizid ist.

Detaillierte Beschreibung der Erfindung

[0019] Wie oben erwähnt, sind Patienten, welche mit Sulfonylharnstoffen behandelt werden, allmählich nicht in der Lage, auf die Sulfonylharnstoffbehandlung zu reagieren. Es ist unter Fachleuten allgemein anerkannt, dass dieses Unvermögen auf die Erschöpfung von β-Zellen zurückzuführen ist, welche dementsprechend nicht in der Lage sind, Insulin als Reaktion auf Glucosestimulierung zu sekretieren. Es ist auch allgemein anerkannt, dass die Wirksamkeit von Sulfonylharnstoffen durch die Kapazität von β-Zellen zur Produktion und Sekretation von Insulin beschränkt ist. Dementsprechend würde man keinen zusätzlichen therapeutischen Vorteil durch die Behandlung von NIDDM-Patienten mit Sulfonylharnstoffen und anderen Mitteln, welche ebenfalls die β-Zellfunktion stimulieren, erwarten.

[0020] Unser Befund, dass NIDDM-Patienten vorteilhaft mit GLP-1-verwandten Peptiden in Kombination mit Sulfonylharnstoffen oder anderen oralen hypoglykämischen Mitteln behandelt werden können, ist deshalb tatsächlich überraschend. In der Tat haben wir festgestellt, dass eine gleichzeitige Behandlung mit oralen hypoglykämischen Mitteln und GLP-1-verwandten Peptiden in einer synergistischen Reaktion der NIDDM-Patienten resultiert: Die Behandlung mit oralen hypoglykämischen Mitteln und GLP-1-verwandten Peptiden führt zu einer stärkeren metabolischen Reaktion als die Summe der Reaktionen von beiden Mitteln, wenn sie allein eingesetzt werden. Sogar in Fällen von Sulfonylharnstoff-Versagen wurde festgestellt, dass die orale Mittel die Wirksamkeit von GLP-1-verwandten Peptiden signifikant erhöhten.

[0021] Eine kombinierte Behandlung mit GLP-1-verwandten Peptiden und oralen hypoglykämischen Mitteln ist somit neuartig, therapeutisch nützlich und überraschend.

[0022] Unvorhergesehenermaßen können therapeutische Vorteile erhalten werden, indem die NIDDM-Patienten mit beiden Arzneimittel-Typen behandelt werden.

[0023] Unter den GLP-1-verwandten Peptiden, welche so bei der Behandlung von Diabetes Typ 2 eingesetzt werden können, sind GLP-1(7-37) und GLP-1(7-36)amid besonders vorteilhaft, da sie identisch mit den in der Natur vorkommenden Hormonen sind.

[0024] Die GLP-1-verwandten Peptide können nach Verfahren verabreicht werden, da gegenwärtig erfindungsgemäß zur Verabreichung von Peptiden zur Verfügung stehen. Eine nasale Applizierung ist unter dem Gesichtspunkt der Mitwirkung des Patienten besonders vorteilhaft. Diesbezügliche Details sind in unserer parallelen dänischen Patentanmeldung Nr. DK 0364/92 zu finden, betreffend die nasale Verabreichung von Medikamenten, die GLP-1-verwandte Peptide umfassen, welche gleichzeitig mit der vorliegenden Anmeldung eingereicht wurde. Der Inhalt dieser Anmeldung ist hier durch die Bezugnahme in seiner Gesamtheit eingeschlossen. Die Verabreichung mittels Injektion oder Infusion wird in Fällen bevorzugt werden, in denen ein spezielles verlängertes Plasmaprofil des aktiven Peptids erforderlich ist. Und die orale Verabreichung ist in Fällen bevorzugt, in denen das Ausmaß und die Kinetik der Absorption keinen kritischen Punkt darstellen.

[0025] Das erfindungsgemäß eingesetzte orale hypoglykämische Mittel kann jedes orale Mittel sein, das auf den ATP-abhängigen Kaliumkanal der β-Zellen einwirkt. Bevorzugt sind Glibenclamid und Glipizid.

[0026] Die in der vorliegenden Beschreibung, in den Beispielen und Ansprüchen offenbarten Merkmale können, sowohl einzeln als auch beliebiger Kombination davon, wesentlich für die Umsetzung dieser Erfindung in verschiedenen Formen sein. Die Erfindung wird weiter durch die folgenden Beispiele erläutert, welche nicht als Beschränkung anzusehen sind, sondern lediglich als Illustration einiger bevorzugter Merkmale der Erfindung.

BEISPIEL 1

Synergistische Wirkung von GLP-1(7-36)amid und Glibenclamid bei NIDDM-Patienten

Assays

[0027] Blutproben wurden in Kunststoffröhrchen, die EDTA (0,048 ml, 0,34 M) und Trasylol® (1000 IE Kallikrein-Inhibitor, erhalten von Bayer, Westdeutschland) enthielten, gesammelt und unmittelbar auf Eis gestellt. Die Proben wurden bei 4°C zentrifugiert und das Plasma bei –20°C gelagert. Die Blutglucose wurde mit einem Glucoseoxidase-Verfahren nach A.S. Hugget und D.A. Nixon, Lancet 2 (1957) 368–370, gemessen. Plasma-C-Peptid-Konzentration wurde mittels Radioimmunoassay (RIA) unter Verwendung eines im Handel erhältlichen Kits (Novo Research Institute, Dänemark) bestimmt. Plasmaglucagon-Konzentrationen wurden mittels

RIA unter Verwendung von Antikörper 30K gemessen, wie von G.R. Faloona und R.H. Unger in B.M. Jaffe und Behrman, Hrsg., Methods of Hormone Radioimmunoassay, Academic Press, New York (1974) 317–330, beschrieben.

[0028] Für weitere experimentelle Details (z.B. für die Berechnung der isoglykämischen mahlzeitbezogenen Insulin-Reaktion, IMIR) wird auf M. Gutniak, C Ørskov, J.J. Holst, B. Ahren und S. Efendic, The New England Journal of Medicine 326 (29) (1992) 1316–1322, verwiesen, worin ein anderes Experiment, unter ähnlichen Bedingungen durchgeführt, beschriebenen ist.

Methoden

[0029] An vier verschiedenen Tagen wurde die Wirkung entweder der Injektion von Glibenclamid, 1 mg i.v., oder der Infusion von GLP-1(7-36)amid mit einer Geschwindigkeit von 0,75 pMol pro Kilogramm Körpergewicht pro Minute oder einer Kombination davon bei derselben Gruppe von 6 insulinbehandelten, fettleibigen NIDDM-Patienten (Körpermasseindex: 30,1 ± 2,4 kg/m^2) untersucht und mit der Verabreichung von physiologischer Kochsalzlösung als Kontrolle verglichen. Die normale Verabreichung von Insulin wurde 24 Stunden vor Beginn der Verabreichung der Testverbindung oder der Salzlösung beendet und alle Versuchspersonen fasteten über Nacht. Ein Biostator (Biles, Diagnostic Division, Elkhart, Ind.) wurde für die Insulinverabreichung in diesem Zeitraum eingesetzt, um die Blutglucosespielel zu normalisieren, bevor die Verabreichung der Testverbindungen begonnen wurde, und auch um 180 Minuten nach dem Verzehr einer Standardtestmahlzeit, umfassend gekochte Kartoffeln, gekochtes Fleisch, gekochte Kartoffeln, ein Glas Milch mit 0,5 % Butterfett und eine Scheibe Brot, das aus einer Mischung von Weizen- und Roggenmehl gebacken worden war, ein normales postprandiales Blutglucossemuster aufrechtzuerhalten. Bei einer Mahlzeit kommen 28, 26 und 46 % der Energie jeweils aus Protein, Fett bzw. Kohlenhydrate. Die Verabreichung der Testverbindungen wurde 30 Minuten nach dem Erreichen von Normalglykämie vorgenommen (Glibenclamid, Salzlösung) bzw. begonnen (GLP-1(7-36)amid). Die Infusion von (GLP-1(7-36)amid wurde 210 Minuten lang fortgesetzt. Nach 30 Minuten (Zeitpunkt Null) erhielten die Versuchspersonen die Testmahlzeit, welche innerhalb von 15 Minuten konsumiert wurde. Blutproben wurden bei –30, 0, 15, 30, 90, 120, 150 und 180 Minuten erhalten.

Ergebnisse

[0030] Nach dem Verzehr des Mahls wurde die mahlzeitbezogenen C-Peptid-Reaktion, Glucagon-Reaktion und der isoglykämischen mahlzeitbezogene Insulinbedarf (IMIR) gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

	C-Peptid-Reaktion (pg/ml/210 Min.)	Glucagon-Reaktion (pg/ml/210 Min.)	IMIR (E)
Kontrolle (physiol. Kochsalzläsung)	7,4 ± 3,6	269345 ± 6299	17,4 ± 2,8
GLP-1(7-36)amid	25 ± 9,8	10451 ± 5126	6,3 ± 2,0
Glibenclamid	105 ± 53,9	*)	8,3 ± 1,0
GLP-1(7-36)amid +Glibenclamid	184 ± 55,1	2526 ± 4873	2,7 ± 0,7

*) Glibenclamid besaß keine signifikanten Einfluss auf die Glucagonfreisetzung.

[0031] Wie in der Tabelle angezeigt, erhöhten sowohl GLP-1(7-36)amid als auch Glibenclamid die mahlzeitbezogene C-Peptid-Reaktion signifikant ($p<0,01$), während Glibenclamid keine signifikante Wirkung hatte. Jedoch wurde in Kombination mit GLP-1(7-36)amid die Glucagon-Reaktion fast eliminiert. Schließlich verringerten sowohl Glibenclamid als auch GLP-1(7-36)amid IMIR und in Kombination war IMIR so niedrig wie 2,7 ± 0,7.

[0032] Zusammenfassend demonstriert dieses Experiment eine starke synergistische Wirkung einer Kombination von GLP-1(7-36)amid und Glibenclamid.

BEISPIEL 2

Synergistische Wirkung von GLP-1(7-36)amid und Glibenclamid bei NIDDM-Patienten mit einem sekundären Versagen der Sulfonylharnstoffbehandlung

Methoden

[0033] Acht Patienten mit NIDDM und sekundärem Versagen der Sulfonylharnstoffbehandlung nahmen an der Studie teil (Alter 57,6 ± 2,7 Jahre, Körpermasseindex 28,7 ± 1,5 kg/m^2, Diabetesdauer 7,6 ± 1,2 Jahre, HbA_{IC} 5,8 ± 0,5). Die Diabetespatienten erfüllten die Kriterien der USA National Diabetes Data Group für NIDDM und IDDM. Keiner der Patienten wies eine beeinträchtigte Nierenfunktion, automatische Neuropathie oder proliferative Retinopathie auf und alle hatten eine normale Leberfunktion. Sie wurden instruiert, sich mindestens 2 Wochen vor und während der Studie von einer Standarddiät für Diabetespatienten zu ernähren. Die mit Sulfonylharnstoffen behandelten Patienten beendeten ihre Medikation eine Woche vor den Experimenten. Diejenigen, welche mit Insulin behandelt wurde, wurden instruiert, die Injektion von NPH-Insulin 24 Stunden vor den Untersuchungen zu beenden. Die Blutglucosekonzentration wurden mit subkutanen Injektionen von normalem Insulin eingestellt.

[0034] Alle Versuchspersonen wurden nach einem Fasten über Nacht untersucht. Um 7,30 Uhr am Morgen jeder Studie wurden drei Kanülen eingeführt. Eine Kanüle wurde in eine Vene in der Ellenbeuge platziert und eingesetzt, um in Abständen Blut für Hormon-Assays zu entnehmen. Sie wurde nach jeder Probenentnahme mit Salzläsung gespült. Eine zweite Kanüle, von hinten in eine Handrückenvene eingeführt, wurde zur kontinuierlichen Überwachung von Blutglucosekonzentration eingesetzt. Das venöse Blut wurde arterialisiert durch Erwärmung des Unterarms und der Hand in einer temperaturregulierten Manschette (Kanthal Medical Heating AB, Stockholm, Schweden) bei 45°C. Die dritte Kanüle wurde in die kontralaterale Ellenbeugenvene (Antecubitalvene) eingeführt und für alle Infusionen eingesetzt. Ab etwa 8.00 Uhr waren die Patienten mit einem Biostator verbunden, um ihre Blutglucosekonzentrationen zu normalisieren. Der Algorithmus des Biostators wurde auf die Normalisierung der basalen Blutglucosespiegel eingestellt. Der Zielwert für die Blutglucosespiegel betrug 4–5 mMol/l. Als der Zielwert erreicht war, wurde der Biostator-Algorithmus auf Überwachung umgestellt und die Feedback-Insulininfusion gestoppt. Die Experimente wurden 30 Minuten nach dem Erreichen von Normoglykämie begonnen, etwa 90 Minuten nach Verbindung mit Biostator. Eine Infusion von physiologischer Kochsalzlösung oder 0,75 pMol/kg/Min. GLP-1(7-36)amid (Peninsula Laboratories, St. Helens, Merseyside, England) wurde dann begonnen und 210 Minuten lang fortgesetzt. Bei Glibenclamid-Experimenten wurde eine intravenöse Injektion von 1 mg Glibenclamid (Hoechst AG, Deutschland) zum selben Zeitpunkt gegeben. Diese vier Studien wurden in randomisierter Weise durchgeführt, mit 2–4 Wochen Pause zwischen den Experimenten. Zum Zeitpunkt 0 erhielten die Versuchspersonen ein Standardessen wie in Beispiel 1 beschrieben, welches sie innerhalb von 15 Minuten verzehrten, während sie in Bett saßen: Blutproben wurden bei FV, –60, –30, –15, 0, 15, 30, 90, 120, 150 und 180 Minuten genommen. Die Blutglucose wurde kontinuierlich gemessen.

Ergebnisse

[0035] Im Grundzustand wurde die Wirkung auf die Blutglocose- und C-Peptidspeigel 45 Minuten nach Beginn der Verabreichung von GLP-1(7-36)amid, Glibenclamid oder einer Kombination davon überprüft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst:

Tabelle 3

	Blutglucose mMol/l	C-Peptid pMol/l
Kontrolle (physiol. Kochsalzlösung)	6,0 ± 0,3	0,53 ± 0,06
GLP-1(7-36)amid	5,1 ± 0,4	0,63 ± 0,1
Glibenclamid	6,0 ± 0,3	0,56 ±0,007
GLP-1(7-36)amid +Glibenclamid	4,5 ± 0,1	0,72 ±0,1

[0036] Diese Ergebnisse demonstrieren klar die synergistische Wirkung der beiden Verbindungen, da Glibenclamid für sich allein keine signifikante Wirkung besaß, während die Wirkung der Kombination von GLP-1(7-36)amid und Glibenclamid eindeutig diejenige von GLP-1(7-36)amid allein übertraf.

[0037] Nach dem Verzehr der Mahlzeit wurden die insulinogenen Indices (integrierte Insulin/-integrierte Glucose-Reaktion) berechnet, welche wiederum die synergistische Wirkung der beiden Verbindungen unterstrichen, wie in Tabelle 3 dargestellt:

Tabelle 3

	Insulinogener Index
Kontrolle (Salzlösung)	1,6 ± 0,6
GLP-1(7-36)amid	21,0 ± 7,2
Glibenclamid	10,6 ± 2,8
GLP-1(7-36)amid + Glibenclamid	37,5 ± 9

Patentansprüche

1. Verwendung einer wirksamen Menge von GLP-1(7-37), GLP-1(7-36) amid zur Herstellung eines Medikaments zur Verwendung bei der Behandlung von Diabetes Typ 2 in einer Kur, die zusätzlich eine Behandlung mit einem oralen Mittel gegen Hypglykamie, das ein Sulfonylharnstoff ist, der ein Blocker des ATP-abhängigen Kaliumkanals auf β-Zellen ist, umfasst, dadurch gekennzeichnet, dass die Verwendung bei der Behandlung

von Diabetes Typs in einem Patienten mit Diabetes Typ 2 mit sekundärem Versagen einer Sulfonylharnstoffbehandlung vorliegt.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Mittel gegen Hyperglykämie Glibenclamid oder Glipizid ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen