



Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

R 20 OCT. 1978 A 61 K

Nº 424.547

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un...

- PATENTE DE INTRODUCCION -

SOLICITANTE: LABORATORIOS LEO, S.A.

RESIDENCIA: Avd. Pío XII, 99 - MADRID (16) -

ENUNCIADO: UN METODO DE OBTENCION DE UN PREPARADO
DE INSULINA.

Prioridad: Patente n.º del



1

5

10

15

20

25

30

Después de la aparición de preparados de insulina clínicamente útiles con una acción insulínica prolongada, las soluciones de insulina que se sabe que son de acción rápida han sido gradualmente sustituidas por estos preparados de insulina más adecuados. Sin embargo, las soluciones de insulina poseen ahora tres aplicaciones cada una de las cuales hace que estas soluciones sean indispensables en terapia, a saber, en el tratamiento de choque en siquiatria, en el tratamiento de emergencias agudas en la terapia de la diabetes y en el empleo en combinación con los preparados de insulina de acción prolongada en el tratamiento diario de los diabéticos. En numerosos casos cuando se hace uso de suspensiones acuosas de cinc-protamina-insulina amorfamente precipitado con un efecto altamente prolongado, es ventajoso agregar una solución de insulina que se mezcla en la jeringa de inyección. Con frecuencia es aconsejable hacer uso de esta mezcla cuando se emplea una suspensión acuosa de cinc-protamina-insulina cristalina.

En todos los casos en que se desea utilizar una adición de insulina en solución o cuando esta adición debe ser utilizada, sin embargo, debe tenerse en cuenta que las soluciones de insulina empleadas hasta ahora son incompatibles con los preparados de insulina de efecto prolongado en lo que se refiere a la acidez. Mientras en la mayoría de los casos los preparados de efecto prolongado son suspensiones neutras de insulina, las soluciones de insulina utilizadas hasta ahora son ácidas y presentan un pH de 3 aproximadamente, ya que han sido producidas disolviendo insulina amorfa o particularmente cristalina en un ácido diluido, habitualmente ácido clorhídrico, al que se ha agregado un agente preserva-



1 tivo y una sustancia que hace la solución isotónica y, si se
desea, una sal de cinc soluble en agua, por ejemplo cloruro
de cinc. Sin embargo, las citadas suspensiones con un efecto
prolongado, pasan a solución a este bajo valor del pH y son
5 más o menos inestables al pH que resulta después de mezclar
la insulina en solución. Como consecuencia de ello, la mez-
cla de insulina disuelta crea una incertidumbre en el trata-
miento de la diabetes y requiere una aplicación rápida de
las mezclas producidas.

10 Esta invención se dirige a la producción de un pre-
parado de insulina de acción rápida que contiene insulina
disuelta como constituyente activo y que es compatible con
los preparados de insulina de efecto retardado debido a su
reacción neutra, en contraposición a las soluciones de insu-
lina utilizadas hasta ahora.

15 La invención se basa en el descubrimiento de que la
insulina producida a partir de páncreas de cerdo, en lo que
sigue llamada insulina de cerdo, tiene una solubilidad tan
alta a un pH de 7 a 8 que no se forman precipitados de insu-
lina a este valor del pH de manera que queda asegurado que,
20 incluso cuando en la solución hay presentes iones de metales,
preferiblemente cinc, que provocan la cristalización de la
insulina, a una concentración que es exactamente suficiente
para la cristalización de la insulina, después de un almace-
namiento prolongado no tiene lugar ninguna precipitación de
insulina cristalina, de la cual se sabe que en suspensión
acuosa que contenga iones de cinc o metales similares a una
concentración mayor presenta una actividad insulínica muy
prolongada.

30 Es sorprendente que cuando se emplea insulina de



1 cerdo sea posible producir soluciones estables de insulina
a un pH de 7-8.

5 El procedimiento de acuerdo con esta invención se
caracteriza por lo tanto por disolver una insulina de cerdo
en un medio inyectable acuoso con un pH de 7-8.

10 Como se ha mencionado en lo que antecede, en la
producción de las soluciones ácidas de insulina conocidas has-
ta ahora algunas veces se utiliza la adición de cloruro de
cinc. Es sabido que los iones de cinc y los iones de otros
metales promotores de la cristalización, como cobalto, ní-
quel y cadmio, reducen la solubilidad de la insulina a reac-
ción neutra. Por lo tanto, si en el procedimiento de acuerdo
con la invención se hace uso de la adición de una sal de cinc
soluble en agua o de una sal de uno de los otros metales pro-
15 motores de la cristalización o si se hace uso de insulina con
un alto contenido en estos metales, debe tenerse cuidado de
que la solución de insulina producida contenga una cantidad
de iones cinc o similares tal que no tenga lugar la precipi-
tación de insulina.

20 En la producción de preparados con reacción neutra
y con un efecto prolongado y constituidos por una suspensión
acuosa de un precipitado de insulina, se sabe hacer uso de
una sustancia reguladora del pH con objeto de mantener la
reacción neutra. Son ejemplos de estas sustancias reguladoras
25 los fosfatos, citratos, acetatos, boratos, maleatos, dietil-
barbituratos y glicerol.

30 También es sabido que algunas de estas sustancias
reguladoras se combinan con los iones de los citados metales
de tal manera que la solubilidad de la insulina a reacción
neutra no es reducida cuando junto con los iones metálicos



1 están presentes estas sustancias reguladoras. Así, los iones
de todos los metales citados forman complejos con el citrato.

5 El procedimiento de acuerdo con la invención se ca-
racteriza por lo tanto por el hecho de que, si se utiliza la
adición de una solución de un compuesto de uno o más de los
metales como cinc, cobalto, níquel y cadmio, que constituye
un requisito previo para la cristalización de la insulina,
o si se hace uso de una insulina con un alto contenido en es-
tos metales, en ausencia de sustancias tales como las sustan-
10 cias reguladoras que forman compuestos poco solubles o com-
plejos con los citados metales, la solución es dotada de un
contenido de los metales inferior a aproximadamente $3 \times A \times$
 10^{-3} miliequivalentes por litro, donde "A" indica el número
de unidades internacionales de insulina por mililitro.

15 Utilizando el cinc como ejemplo y una concentración
de insulina de 40 unidades internacionales por mililitro, la
solución producida, en ausencia de, por ejemplo, reguladores
de fosfato y citrato, debe contener menos de alrededor de
1,7 % de cinc. Sin embargo, si están presentes iones fosfato
20 o citrato como reguladores, el preparado producido puede con-
tener una cantidad de cinc considerablemente mayor si sola-
mente la cantidad de iones cinc que quedan a disposición de
la insulina y consecuentemente no están combinados con la sus-
tancia reguladora no pasa del límite superior anteriormente
25 mencionado.

30 Además, el hecho es que, a la vista de la estabili-
dad de la solución cuando se almacena durante un periodo pro-
longado de tiempo, el límite superior para el contenido de
dichos metales en la solución de insulina depende del valor
del pH y de la temperatura de almacenamiento de la solución.



1 Cuanto mayor sea el contenido en metal y menor la temperatura
de almacenamiento, mayor debe ser el pH de la solución para
que esta última sea estable por almacenamiento prolongado.

5 En la patente estadounidense nº 2.920.014 (solicitud
número 692.612) y en la patente estadounidense nº 3.058.885
(solicitud nº 738.011) se reivindican procedimientos para la
producción de suspensiones acuosas de cristales de insulina
con un efecto prolongado, reacción neutra y un contenido en
cinc o en metales similares relativamente bajo. Las solucio-
10 nes de insulina producidas de acuerdo con esta invención son
muy apropiadas para ser mezcladas con los preparados de insuli-
na producidos de acuerdo con las citadas patentes, ya que es-
ta mezcla comunica a estos preparados el efecto inicial desea-
do. La mezcla puede tener lugar incluso en escala industrial
15 antes de que los preparados sean introducidos en el mercado,
ya que las mezclas producidas son completamente estables in-
cluso después de almacenamiento prolongado bajo las condicio-
nes que prevalecen en la práctica.

20 Los siguientes ejemplos de trabajo ilustrarán el
procedimiento de acuerdo con la invención.

EJEMPLO 1

25 Se disuelven 1,74 g (40.000 unidades) de insulina
de cerdo amorfa exenta de cinc en 500 ml de agua conteniendo
2 ml de HCl 1N, 50 g de glucosa y 2 g de fenol. La solución
se filtra estérilmente, se neutraliza con NaOH 1N a pH 7,6 y
se diluye con agua estéril hasta 1000 mililitros.

EJEMPLO 2

30 Se disuelven 1,74 g (40.000 unidades) de insulina
de cerdo cristalina, conteniendo alrededor de 0,4 % de cinc,
en 500 ml de agua conteniendo 2 ml de HCl 1N, 50 g de glucosa



1 y 1 g de p-hidroxilbenzoato de metilo. La solución se filtra
esterilmente y neutraliza con 500 ml de una solución estéril
de fosfato sódico 0,02 molar (pH = 7,5). Si es necesario, el
5 pH de la mezcla se reajusta con NaOH 1N a 7,3-7,5. Como se
observará en lo anterior, 1,74 g (4000 unidades) de insulina
de cerdo cristalina, conteniendo 0,4 % de metal (cinc) se di-
suelven en 500 mililitros de agua y esta solución se mezcla
posteriormente con 500 ml de una solución estéril de fosfato
10 sódico para dar un total de 1 litro aproximadamente de solu-
ción. Así, el preparado final contiene 6,96 mg de metal por
litro y, como la concentración de insulina es de 40 unidades
por mililitro, el preparado final contiene alrededor de 5×10^{-3}
miliequivalentes del metal por litro.

EJEMPLO 3

15 Se disuelven 1,74 g (40.000 unidades) de insulina
de cerdo cristalina conteniendo alrededor de 0,7 % de cinc
en 400 ml de agua conteniendo 2 ml de HCl 1N y 1 g de p-hidro-
xibenzoato de metilo. La solución se filtra estérilmente y se
mezcla con 500 ml de una solución estéril que contiene 1,4 %
20 de NaCl y acetato sódico 0,02M. El pH se ajusta a 7,3-7,5 con
NaOH 1N, después de lo cual la solución se diluye con agua
estéril hasta 1000 ml.

25 En todos los ejemplos anteriores, las soluciones
producidas tienen un contenido en insulina de 40 unidades in-
ternacionales por mililitro. Sin embargo, de acuerdo con la
invención también es posible producir soluciones más concen-
tradas, conteniendo, por ejemplo, 80 unidades internacionales
de insulina por mililitro. Al aumentar la concentración de in-
30 sulina, manteniendo por lo demás idéntica la composición de
las soluciones, debe utilizarse un pH más alto con objeto de



1 asegurarse de que no precipita nada de insulina de las solu-
ciones cuando son almacenadas. Como ya se ha insistido ante-
riormente, el contenido de zinc y de metales similares en -
5 las soluciones y el tipo de regulador utilizado, si se em-
plea alguno, influirá sin embargo en la solubilidad de la -
insulina de cerdo, lo que también debe tenerse en considera-
ción cuando se emplean concentraciones más altas de insuli-
na.

10 En resumen la Patente de Introducción que se soli-
cita deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

15 1.- UN METODO DE OBTENCION DE UN PREPARADO DE IN-
SULINA, esencialmente caracterizado porque consiste en pre-
parar una solución estéril de insulina de cerdo cristalina
conteniendo un metal tal como zinc, cobalto, níquel y cad-
mio, en un medio inyectable acuoso a un pH de valor entre -
7 y 8, aproximadamente, de modo que la concentración del me-
tal seleccionado sea de $5 \times A \times 10^{-3}$ como mínimo, pero sin
20 alcanzar $13 \times A \times 10^{-3}$ miliequivalentes por litro, siendo A
el número de unidades internacionales de insulina por mili-
metro de preparado.

25 2. Se reivindica por último como objeto sobre el
que ha de recaer la Patente de Introducción que se solicita:
UN METODO DE OBTENCION DE UN PREPARADO DE INSULINA.

