



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 649 922 A5

⑤① Int. Cl.4: A 61 K 31/685
A 61 K 37/26

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

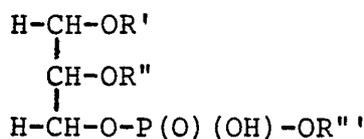
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑳ Gesuchsnummer: 6319/82	㉓ Inhaber: Novo Industri A/S, Bagsvaerd (DK)
㉒ Anmeldungsdatum: 29.10.1982	
㉓① Priorität(en): 30.10.1981 DK 4786/81 20.07.1982 DK 3247/82	㉗ Erfinder: Hansen, Philip Edgar, Kopenhagen (DK) Brange, Jens Jorgen Vejilgaard, Klampenborg (DK) Havelund, Svend, Hvidovre (DK)
㉔ Patent erteilt: 28.06.1985	
㉕ Patentschrift veröffentlicht: 28.06.1985	㉘ Vertreter: Dr. A. R. Egli & Co., Patentanwälte, Zürich

⑤④ Stabilisierte Insulinlösungen.

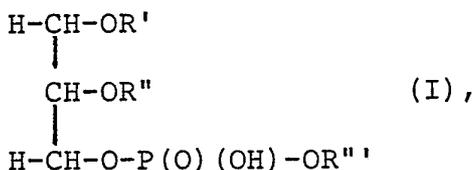
⑤⑦ Insulinlösungen können physikalisch stabilisiert werden, indem ihnen Phospholipide der Formel



mit R', R'' und R''' gemäss vorangehenden Patentansprüchen, bevorzugterweise semisynthetisches Lecithin zugesetzt werden.

PATENTANSPRÜCHE

1. Physikalisch stabilisierte Insulinlösung, dadurch gekennzeichnet, dass sie stabilisierende Mengen an einem Phospholipid der Formel (I) enthält



in der R' und R'', die gleich oder verschieden sein können, stehen für Wasserstoff, Alkylcarbonyl, Alkenylcarbonyl, Alkadienylcarbonyl, Alkatrienylcarbonyl oder Alkatetraenylcarbonyl, mit der Massgabe, dass R' und R'' nie gleichzeitig Wasserstoff sind, und in der R''' für eine hydrophile Gruppe steht.

2. Insulinlösung gemäss Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die hydrophile Gruppe in der Formel (I) 2-(Trimethylammonium)äthyl, 2-Aminoäthyl, 2-Carboxy-2-aminoäthyl, 2,3-Dihydroxypropyl oder 2,3,4,5,6-Pentahydroxycyclohexyl ist.

3. Insulinlösung gemäss Patentanspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Insulin im wesentlichen ausserhalb der Liposome vorliegt.

4. Insulinlösung gemäss einem der vorangehenden Patentansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass R''' für 2-(Trimethylammonium)äthyl steht.

5. Insulinlösung gemäss Patentanspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass R' und R'' je für Alkylcarbonyl stehen mit je von 8 bis 16 C-Atomen.

6. Insulinlösung gemäss Patentanspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass R' und R'' je für Alkylcarbonyl stehen mit von 12 bis 16 C-Atomen.

7. Insulinlösung gemäss einem der vorangehenden Patentansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass R' und R'' je für Octanoyl stehen.

8. Insulinlösung gemäss einem der vorangehenden Patentansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration des Phospholipids der Formel (I) in der Lösung im Bereich von 10 bis 200 µg/ml liegt.

9. Insulinlösung gemäss Patentanspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration an Phospholipid zwischen 10 und 100 µg/ml liegt.

10. Insulinlösung gemäss Patentanspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration an Phospholipid zwischen 25 und 75 µg/ml liegt.

11. Insulinlösung gemäss Patentanspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration an Phospholipid zwischen 30 und 50 µg/ml liegt.

12. Insulinlösung gemäss einem der vorangehenden Patentansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Gewichtsverhältnis zwischen dem Phospholipid der Formel (I) und dem Insulin im Bereich zwischen 1 : 5 bis 1 : 10 000 liegt.

13. Insulinlösung gemäss Patentanspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass das genannte Gewichtsverhältnis im Bereich von 1 : 10 bis 1 : 1000 liegt.

14. Insulinlösung gemäss einem der vorangehenden Patentansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich Zink enthält.

15. Insulinlösung gemäss Patentanspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass das Verhältnis zwischen der molaren Konzentration an Zinkionen, das dem Insulin zur Verfügung steht, und der molaren Konzentration von Insulin, berechnet als Hexamerinsulin, im Bereich von 1,5 bis 4,6 liegt.

16. Insulinlösung gemäss Patentanspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass das genannte Verhältnis im Bereich von 3 bis 4,5 liegt.

17. Insulinlösung gemäss Patentanspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass das genannte Verhältnis im Bereich von 3,6 bis 4,3 liegt.

Die vorliegende Erfindung betrifft physikalisch stabilisierte Insulinlösungen.

Insulin, das in einem flüssigen Medium, beispielsweise Wasser, gelöst ist, kann bei Raumtemperatur jahrelang gelagert werden. Die genannten Präparate sind in der genannten Zeitperiode also stabil. Wenn aber eine Insulinlösung auf etwa 80 °C erwärmt wird, wird das Insulin innerhalb weniger Minuten denaturiert, ein Vorgang, welcher als Wärmedenaturierung oder Wärmepolymerisation bezeichnet wird. Wenn eine Insulinlösung einige Tage lang bei tieferen Temperaturen, bei welchen gar keine oder im wesentlichen keine Wärmedenaturierung stattfindet, beispielsweise bei 41 °C geschüttelt wird, tritt eine andere Art von Polymerisation in Erscheinung. Diese Art von Polymerisation wird im folgenden als nicht-kovalente Interface-Polymerisation bezeichnet werden.

Normalerweise werden Insulinpräparate bei Herstellern, in Lagern, Läden und bei Patienten bei ungefähr 5 °C aufbewahrt. Bei dieser Temperatur scheint in solchen Präparaten keine Interface-Polymerisation aufzutreten, obwohl solche Präparate beim Transport bei der Verwendung unweigerlich hin und wieder geschüttelt werden.

In den letzten Jahren sind ständig ansteigende Bemühungen festzustellen, um tragbare oder implantierbare Systeme für die kontinuierliche Infusion von Insulin zu entwickeln. Im wesentlichen umfasst der mechanische Teil solcher Systeme einen Insulinbehälter, ein Pumpsystem und einen geeigneten Katheter für die Abgabe des Insulins an den Patienten. Falls die Insulinlösung mittels einer Spritze verabreicht wird, kann die Spritze selbst die Funktion des Insulinreservoirs übernehmen.

Es ist nun unglücklicherweise festgestellt worden, dass wenn Insulin in kommerziell erhältlichen Lösungen in die obengenannten Abgabesysteme eingefüllt wird, es zu Interface-Polymerisationserscheinungen schon bei Raumtemperatur kommen kann, wodurch sowohl die mechanischen Teile wie auch der Einleitungskatheter verstopft werden können. Dieses Charakteristikum von Insulinlösungen stellt erwiesenermassen eine grosse Schwierigkeit hinsichtlich weiterer Entwicklungen von klinischen Anwendungen von kontinuierlichen Infusionsausrüstungen dar.

Es ist klar, dass in allen Arten von kontinuierlichen Abgabevorrichtungen die Insulinlösungen bewegt werden, was eben zur genannten Interface-Polymerisation führen kann. Die allgemeinen Nachteile von Insulinpräparaten gemäss dem Stand der Technik hinsichtlich der genannten Schwierigkeit sind in der Literatur weitgehend dokumentiert, siehe dazu beispielsweise Diabetologia 19, 1980, Seiten 1 bis 9.

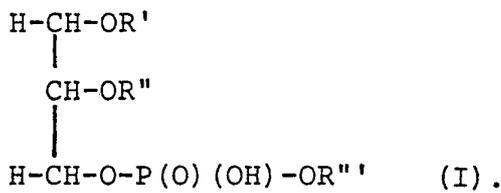
Um dieses Problem zu lösen, ist vorgeschlagen worden, saure Insulinlösungen zu verwenden, die Glutaminsäure oder Asparaginsäure enthalten; siehe dazu Diabetes 30, 1981, Seite 83. Insulin ist jedoch in sauren Lösungen chemisch instabil, sogar unterhalb Körpertemperaturen. Ebenso ist vorgeschlagen worden, insulinhaltige Formulierungen zu verwenden, welche nicht-ionische oberflächenaktive Stoffe enthalten, siehe dazu DE-Patentanmeldung

Nr. P 2 952 119. Dazu ist aber zu sagen, dass nicht-ionische oberflächenaktive Stoffe in Medikamente für parenterale Anwendung als unerwünschte Beimischungen betrachtet werden können.

Die obengenannten Schwierigkeiten werden mittels der vorliegenden Erfindung überwunden. Die Erfindung schafft neue Präparate von gelöstem Insulin, in denen das Insulin wesentlich weniger zu nicht-kovalenter Interface-Polymerisation neigt und dies unter Bedingungen, wie sie in Ausrüstungen für die kontinuierliche Insulinabgabe herrschen, mit denen bis heute konventionelle Insulinpräparate verabreicht worden sind.

Es ist überraschenderweise gefunden worden, dass Insulinlösungen stabilisiert werden eben gegen die oben beschriebene Interface-Polymerisation, wenn mindestens ein Phospholipid in der genannten Lösung vorliegt.

Die Phospholipide, die in den erfindungsgemässen Insulinlösungen vorliegen, entsprechen der folgenden Formel (I)



In der Formel stehen R' und R'', die gleich oder verschieden sein können, je für Wasserstoff, Alkylcarbonyl, Alkenylcarbonyl, Alkadienylcarbonyl, Alkatrienylcarbonyl oder Alkatetraenylcarbonyl mit der Massgabe, dass nie beide, R' und R'', gleichzeitig Wasserstoff sind und R''' steht für eine hydrophile Gruppe. Beispiele solcher hydrophilen Gruppen sind 2-(Trimethylammonium)äthyl, 2-Aminoäthyl, 2-Carboxy-2-aminoäthyl, 2,3-Dihydroxypropyl oder 2,3,4,5,6-Pentahydroxycyclohexyl. Die genannten Gruppen, d. h. Alkylcarbonyl, Alkenylcarbonyl, Alkadienylcarbonyl, Alkatrienylcarbonyl und Alkatetraenylcarbonyl-Gruppen können beispielsweise 8 bis 22 C-Atome enthalten; in einer speziellen Ausführungsform dieser Erfindung stehen die genannten Gruppen für Alkylcarbonyl mit 8 bis 16 C-Atomen und bevorzugt mit 12 bis 16 C-Atomen.

Dementsprechend betrifft diese Erfindung eine stabilisierte Insulinlösung, die Wasser, gelöstes Insulin und mindestens eines der Phospholipide von Formel (I) enthält. Gegebenenfalls enthalten die Lösungen ein Zinksalz, eine Konservierungsmittel, einen Zusatz, um die Lösung isotonisch zu machen, eine Pufferungssubstanz und weitere physiologisch annehmbare Komponenten, die als Additive in Insulinlösungen oder ähnlichen, bekannt sind.

Eine bevorzugte Unterklasse von Verbindungen der Formel (I) sind Verbindungen, in denen R' und R'' je für Alkylcarbonyl stehen. Eine weitere, bevorzugte Untergruppe von Verbindungen der Formel (I) sind Verbindungen, in denen R''' für 2-(Trimethylammonium)äthyl steht, wobei solche Verbindungen als Lecithine bekannt sind. Noch eine weitere Bevorzugung liegt vor für Verbindungen der Formel (I), in denen R' und R'' je für Alkylcarbonyl mit von 8 bis 16 C-Atomen oder mit von 12 bis 16 C-Atomen und in denen R''' für 2-(Trimethylammonium)äthyl stehen. Die am meisten bevorzugte Untergruppe der Verbindungen der Formel (I) sind diejenigen Verbindungen, in denen R' und R'' je für Octanoyl stehen. Verbindungen der Formel (I), in denen R' und R'' je für Octanoyl stehen, werden bevorzugt, weil sie anscheinend keine Liposome bilden und weiter weil sie, speziell bei tieferen Konzentrationen, beispielsweise unterhalb 160 µg/ml, anscheinend keine Micellen bilden.

Bevorzugterweise beträgt die Menge an Phospholipid der Formel (I), die nötig ist, um die Insulinlösung zu stabilisieren, 10 bis 200 µg/ml, noch bevorzugter sind Mengen von 10 bis 100 µg/ml, speziell von 25 bis 75 µg/ml und speziell bevorzugt von 30 bis 50 µg/ml der Insulinlösung. Die Konzentration des gelösten Insulins in den Lösungen gemäss dieser Erfindung liegt im Bereich von 5 bis 1000 internat. Einheiten (I.U.) pro ml oder sogar höher.

Einige der stabilisierten Insulinlösungen, welche gemäss den weiter unten folgenden Beispielen hergestellt werden, können Liposome enthalten. Die genannten Liposome werden aber kaum Insuline eingeschlossen enthalten, da sie sich schon vor der Zugabe von Insulin bilden.

Wenn in den erfindungsgemässen Insulinlösungen Liposome vorliegen, befindet sich das Insulin bevorzugterweise im wesentlichen ausserhalb der Liposome in der Lösung. Der Ausdruck «im wesentlichen» steht hier für vorzugsweise mehr als 90%, speziell bevorzugterweise für mehr als 99% an Insulin, welches getrennt von den Liposomen vorliegt.

Liposome, welche Insulin eingeschlossen enthalten können, sind gemäss dem Stand der Technik bekannt, siehe dazu beispielsweise veröffentlichtes EP-Gesuch Nr. 32 622. Diese Liposome können von den erfindungsgemässen einmal zweckgemäss unterschieden werden, wie auch aufgrund der Tatsache, dass in den Insulinlösungen gemäss der vorliegenden Erfindung Insulin höchstens zufällig innerhalb irgendwelchen Liposombläschen vorliegen können. Währenddem die Insulinlösungen gemäss dieser Erfindung für parenterale Verabreichung gedacht sind, liegt die Hauptüberlegung, die zum Einschluss von Insulin in Liposomen geführt hat, in der oralen Verabreichung des Mittels. Ein Zweck des Einschlusses von Insulin in den Liposomen ist es, das Insulin gegen unerwünschten chemischen Angriff zu schützen; beispielsweise gegen die chemische Zersetzung von Insulin im Magen, im Falle von oraler Verabreichung von Insulin. Die Veröffentlichungen betreffend in Liposomen enthaltenem Insulin betreffen in keiner Weise die physikalische Stabilisierung von Insulinlösungen gegen Interface-Polymerisation. In bekannten insulinhaltigen Liposomen liegt zudem das Gewichtsverhältnis zwischen dem Phospholipid und dem Insulin beispielsweise zwischen 1 : 0,01 bis 1 : 0,001, währenddem in den erfindungsgemässen Lösungen das genannte Gewichtsverhältnis im Bereich zwischen 1 : 5 und 1 : 10 000, bevorzugterweise im Bereich zwischen 1 : 10 bis 1 : 1000 liegt.

Die DE-Offenlegungsschrift Nr. 2 652 636 betrifft ein Verfahren zur Stabilisierung von empfindlichen Proteinen mittels Zugabe von Schutzverbindungen mit ambophiler Struktur. Im Gegensatz zur vorliegenden Erfindung wird die Stabilisierung gemäss der genannten DE-Offenlegungsschrift dadurch erreicht, dass das empfindliche Protein schützend umhüllt wird, so dass dessen Kontakt mit dem Wasser verhindert wird. Zudem wird gemäss der Terminologie in der genannten DE-Offenlegungsschrift Insulin nicht als empfindliches Protein aufgefasst.

Ein Ziel dieser Erfindung ist es, Insulin in Kontakt mit Wasser, d. h. in Lösung, zu halten, und es aber zugleich vor Kontakten mit anderen Oberflächen zu schützen.

Die Insulinlösungen gemäss dieser Erfindung enthalten vorzugsweise Insulin, das von Rindern, Schweinen oder von Menschen stammt.

In einer bevorzugten Ausführungsform enthält die erfindungsgemässe Insulinlösung Zink. Die Menge an zugegebenem Zink sollte aber so ausgewählt werden, dass keine Ausfällung erfolgt. Eine gute Stabilität gegen Interface-Polymerisation wird in Insulinlösungen dann erreicht, wenn das Verhältnis zwischen der molaren Konzentration an Zinkionen, die dem Insulin zur Verfügung stehen, und der molaren Konzentration an Insulin, berechnet als Hexameres, im Be-

reich von 1,5 bis 4,6, bevorzugterweise von 3 bis 4,5, speziell bevorzugterweise von 3,6 bis 4,3 liegt. Bevorzugte Zinksalze sind lösliche Zinksalze wie Zinkacetat oder Zinkchlorid. Wenn die Insulinlösung gemäss dieser Erfindung Verbindungen enthält, die mit Zink Komplexe bilden, wie Aminosäuren, beispielsweise Glycin oder Histidin oder Hydroxycarbonsäuren wie beispielsweise Zitronensäure, steht nur ein Teil der totalen Zinkmenge zur Verfügung des Insulins.

Eine beispielhafte Methode zur Herstellung der erfindungsgemässen Insulinlösungen umfasst das Auflösen von Insulin, beispielsweise in der Form eines kristallinen Zink-Insulin-Komplexes oder eines hochgradig gereinigten Insulins wie das Monocomponent-Insulin gemäss GB-Patent Nr. 1 285 023, in Wasser in Anwesenheit einer Säure, beispielsweise Salzsäure. Eine wässrige Lösung eines Konservierungsmittels, beispielsweise Phenol, ein Alkylphenol wie Cresol oder Methyl-p-hydroxybenzoat wird getrennt davon zubereitet. Die zweite Lösung kann gegebenenfalls auch einen Zusatz enthalten, der die Lösung isotonisch macht, Beispiele solcher Zusätze sind Natriumchlorid oder Glycerin. Die Lösung des Konservierungsmittels kann zudem noch eine Pufferungssubstanz enthalten wie Natriumorthophosphat, Natriumcitrat, Natriumacetat oder TRIS (tris (Hydroxymethyl)aminomethan). Die derart erhaltene Konservierungslösung wird dann, falls erwünscht, zur sauren Insulinlösung gegeben, worauf dann eine Base zugegeben wird, beispielsweise Natriumhydroxidlösung, um den pH-Wert auf Neutralität zu bringen. Im Gebiete dieser Erfindung steht Neutralität für pH-Werte im Bereich von 6,5 bis 8. Das Phospholipid der Formel (I) kann zur Insulinlösung gegeben werden in Form einer Lösung oder einer kolloidalen Lösung, wie sie erhalten wird mittels Auflösen oder Suspension des Phospholipids der Formel (I) in Wasser und, falls nötig, nach einer Ultraschallbehandlung der Suspension vor dem Zumischen zur Insulinlösung. Die Phospholipidlösung kann, falls gewünscht, ebenfalls eine Pufferungssubstanz und ein Konservierungsmittel enthalten. Nach dem Zumischen des Phospholipids wird der pH-Wert des Insulinpräparates wiederum auf Neutralität gebracht. Abschliessend wird die Insulinlösung mittels Zugabe eines berechneten Wasservolumens auf die gewünschte Konzentration gebracht, worauf es mittels Filtration sterilisiert wird und dann aseptisch in sterile Violen abgefüllt wird, die anschliessend verschweisst werden.

Einige Verbindungen der Formel (I) sind bekannt und die restlichen Verbindungen der Formel (I) können mittels Verfahren hergestellt werden, die analog denjenigen sind, die für die Herstellung der bekannten Verbindungen verwendet werden.

Weitere Details zur Ausführung der vorliegenden Erfindung werden in den folgenden Beispielen gegeben, welche Beispiele jedoch nicht als Begrenzung irgendeiner Art hinsichtlich des Erfindungsumfanges aufzufassen sind. Das Ausgangs-Insulinmaterial, welches in den Beispielen verwendet worden ist, enthielt 20 bis 35 µg Zink pro mg Stickstoff. Die Bestimmung des Stabilitätsfaktors geschieht gemäss den folgenden Angaben:

Um die Stabilität von Insulinlösungen hinsichtlich der Interface-Polymerisation zu bestimmen, werden die genannten Lösungen einem Stabilitätstest unterzogen, welcher unter Einwirkung von Aussenkräften verläuft und der folgendermassen ausgeführt wird:

Violen von 12,5 ml Inhalt mit je 10 ml Testlösung wurden mit einem Gummistopfen geschlossen. Dann wurden sie vertikal auf einer Schüttelplatte angeordnet (Apparat von HETO, Dänemark), welche total im Wasserbad lag, das bei einer Temperatur von $41 \pm 0,1$ °C gehalten wurde. Die Plattform wurde horizontal hin und her bewegt und zwar

mit einer Frequenz von 100 Bewegungen pro Minute und einer Amplitude von 50 mm.

Die Opaleszenz der Testlösungen wurde in regelmässigen Zeitintervallen auf einem «Fischer DRT 1000 Nephelometer» (Apparat von Fischer, Canada) bestimmt. Dabei wurde angenommen, dass Interface-Polymerisierung dann eintrat, wenn die Trübung mehr als 10 nephelometrischer Trübungseinheiten (NTU) betrug.

Der Stabilitätsfaktor wurde berechnet als das Verhältnis der Zeiten, in denen die Interface-Polymerisation bei erfindungsgemässen Testlösungen eintrat zu denjenigen Zeiten, in denen die genannte Erscheinung in Mischungen ohne Verbindungen der Formel (I) eintrat.

Beispiel 1

500 g semisynthetisches Humaninsulin wurden in 10 ml einer 0,045 N Salzsäurelösung gelöst. Zur Lösung wurden 359 mg Methyl-p-hydroxybenzoat gegeben, welches in 300 ml destilliertem Wasser gelöst war. Zur Mischung wurden dann 476 mg Natriumacetat-Trihydrat, 2,46 g Natriumchlorid und 4,73 ml einer 0,2 N Natriumhydroxidlösung gegeben, welche zusammen in 15 ml destilliertem Wasser gelöst waren. Dann wurden 9 mg Dimyristoyl, L-alpha-phosphatidylcholin in 10 ml einer Lösung aus 70 mg Natriumchlorid, 13,6 mg Natriumacetat und 10 mg Methyl-p-hydroxybenzoat in destilliertem Wasser suspendiert. Durch die Aufschlammung wurde dann Stickstoff geleitet, welche Aufschlammung dabei 2 Stunden lang einer Ultraschallbehandlung in einem Ultraschallbad unterzogen wurde. Die resultierende kolloidale Lösung wurde unter Rühren zur obigen Insulinlösung gegeben. Der pH der Mischung wurde darauf mittels 0,2 N Salzsäurelösung oder mittels 0,2 N Natriumhydroxidlösung auf 7,45 eingestellt und die Mischung wurde mittels Zugabe von destilliertem Wasser auf ein Totalvolumen von 350 ml gebracht. Der Stabilitätsfaktor der so erhaltenen Insulinlösung lag über 125.

Beispiel 2

9,65 g Schweine-Insulin wurden in 400 ml einer 0,02 N Salzsäurelösung gelöst. Dazu wurden dann 5,0 g kristallines Phenol und 40 g wasserfreies Glycerin gegeben. Die Mischung wurde dann mittels destilliertem Wasser auf 2200 ml Volumen gebracht. Der pH der Mischung wurde mittels Zugabe von 0,2 N Natriumhydroxidlösung auf 7,45 gebracht. Dann wurden 125 mg Distearoyl, L-alpha-phosphatidylcholin unter schwachem Erwärmen in 2 ml 96%igem Äthanol gelöst und diese Lösung mittels einer Injektionsspritze in 100 ml destilliertes Wasser von 70 °C eingespritzt. Das Wasser wurde dabei stark gerührt. Die resultierende trübe Lösung wurde dann einer Ultraschallbehandlung unterzogen und zwar mittels einer Hochenergie-Ultraschallsonde. Die Behandlung dauerte 15 Minuten. Die resultierende kolloidale Lösung wurde dann zur oben hergestellten Insulinlösung gegeben. Dies geschah unter Rühren, wobei noch destilliertes Wasser bis zu einem Totalvolumen von 2500 ml gegeben wurde. Der pH-Wert wurde, falls nötig, wieder auf 7,45 eingestellt. Der Stabilitätsfaktor der erhaltenen Lösung lag über 30.

Beispiele 3 bis 8

Es wurden Insulinlösungen hergestellt und zwar mittels analoger Verfahren wie im Beispiel 1, mit der Massgabe, dass die eingesetzten Phospholipide Lecithine waren, in denen die hydrophoben Reste, d. h. R' und R'', identisch sind und denjenigen entsprechen, die in der folgenden Tabelle I angegeben sind. Auch die entsprechenden Resultate sind in der folgenden Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I

Bsp. Nr.	R' und R''	Insulin Species	Stabilitätsfaktor
3	Myristoyl	Schweine-	über 120
4	Palmitoyl	Schweine-	104
5	Stearoyl	Schweine-	über 117
6	Lauroyl	Human-	über 133
7	Myristoyl	Human-	über 133
8	Palmitoyl	Human-	75

Beispiel 9

Eine Insulinlösung wurde hergestellt mittels eines dem Verfahren aus Beispiel 1 analogen Vorgehens. Das dabei eingesetzte Phospholipid war Eier-Lecithin und das eingesetzte Insulin war Schweine-Insulin. Der Stabilitätsfaktor der Mischung betrug 96.

Beispiele 10 bis 14

Es wurden Insulinlösungen hergestellt gemäss dem Verfahren, wie es im Beispiel 1 beschrieben ist, mit der Massgabe, dass Schweine-Insulin in einer solchen Menge zugegeben wurde, dass die Konzentrationen gemäss der folgenden Tabelle II erhalten wurden. Auch die entsprechenden Stabilitätsresultate sind in der Tabelle II angegeben:

Tabelle II

Bsp. Nr.	Insulin I.U./ml	Stabilitätsfaktor
10	20	über 120
11	40	über 120
12	100	97
13	200	79
14	500	53

Beispiel 15

1,50 g Schweine-Insulin wurden in 6,5 ml einer 0,2 N Salzsäurelösung gegeben. Die Lösung wurde mittels Wasser auf ein Volumen von 50 ml gebracht. Daneben wurden 1,0 g Methyl-p-hydroxybenzoat und 1,78 g Natriumphosphat in 900 ml destilliertem Wasser gelöst; diese zweite Lösung wurde dann zur Insulinlösung gegeben. Der pH der Mischlösung wurde mittels Zugabe von 0,2 N Natriumhydroxidlösung auf 7,45 eingestellt. Eine kolloidale Dimyristoyl,L-alpha-phosphatidylcholin-Lösung, wie sie schon im Beispiel 2 hergestellt worden war, wurde zugegeben und das Ganze wurde dann mittels Zugabe von Wasser auf 1000 ml gebracht. So wurde eine Endkonzentration an Phospholipid von 50 µg/ml erreicht. Der Stabilitätsfaktor der Lösung lag über 30.

Beispiel 16

Eine Insulinlösung wurde hergestellt analog dem Verfahren aus Beispiel 15, jedoch mit der Massgabe, dass die Endkonzentration 20 ml I.U. Insulin pro ml betrug. Der Stabilitätsfaktor betrug über 17.

Beispiel 17

Eine Insulinlösung wurde hergestellt in Analogie des Vorgehens aus dem Beispiel 15, mit der Massgabe, dass die End-Insulinkonzentration 500 I.U./ml und die Endkonzentration an Dimyristoyl,L-alpha-phosphatidylcholin 50 µg/ml betrug. Der Stabilitätsfaktor dieser Lösung war über 30.

Beispiele 18 bis 20

Es wurden Insulinlösungen hergestellt in Analogie mit dem Verfahren aus Beispiel 2, mit der Massgabe, dass soviel Dimyristoyl,L-alpha-phosphatidylcholin eingesetzt wurde, um die Endkonzentration gemäss der folgenden Tabelle V zu erreichen. Auch die entsprechenden Stabilitätswerte sind in der Tabelle V zusammengestellt.

Tabelle V

Bsp. Nr.	Dimyristoyl-Verbindung µg/ml	Stabilitätsfaktor
18	1	1,3
19	10	1,8
20	50	über 33

Beispiel 21

Es wurde Dioctanoyl,L-alpha-phosphatidylcholin in destilliertem Wasser aufgelöst und wurde dann in einer solchen Menge einer Insulinlösung, die in Analogie zu den Angaben im Beispiel 1 erhalten worden war, zugegeben, dass eine Endkonzentration von 30 µg/ml erhalten wurde. Der Stabilitätsfaktor war höher als 63.

Beispiel 22

3,65 g semisynthetisches Human-Insulin wurden in 100 ml einer 0,02 N Salzsäurelösung gelöst. Zur Lösung wurden dann 2,0 g kristallines Phenol gegeben. Anschliessend wurden der Lösung 16 g wasserfreies Glycerin und 0,3 ml einer Zinkchloridlösung, welche 4% Zink enthielt, zugegeben. Mit destilliertem Wasser wurde nun auf ein Volumen von 900 ml aufgefüllt. Der pH der Lösung wurde mittels Zugabe von 0,2 N Natriumhydroxid auf 7,45 eingestellt. Dann wurden 50 mg Dioctanoyl,L-alpha-phosphatidylcholin in destilliertem Wasser gelöst und zur ersten Lösung gegeben. Das Ganze wurde nun mittels Zugabe von destilliertem Wasser auf ein Volumen von 1000 ml gebracht. Der Stabilitätsfaktor dieser Lösung betrug 65.