



CH 683824 A5



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

① CH 683824 A5

⑤ Int. Cl.<sup>5</sup>: A 61 K 31/535  
C 07 D 265/02

**Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑳ Gesuchsnummer: 1108/92

㉒ Anmeldungsdatum: 06.04.1992

③① Priorität(en): 05.04.1991 US 680997

㉔ Patent erteilt: 31.05.1994

④⑤ Patentschrift veröffentlicht: 31.05.1994

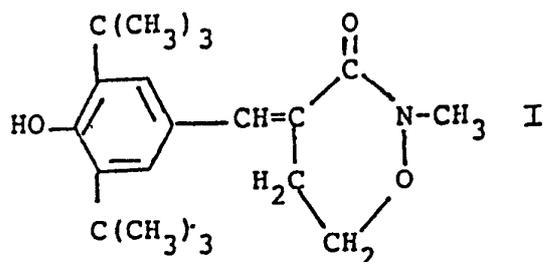
⑦③ Inhaber:  
Biofor, Ltd, Waverly/PA (US)

⑦② Erfinder:  
Lee, Sung J., Clarks Summit/PA (US)

⑦④ Vertreter:  
E. Blum & Co., Zürich

⑤④ **Zusammensetzung als Mittel zur Behandlung von Entzündungen.**

⑤⑦ Es wird eine Zusammensetzung als entzündungshemmendes Arzneimittel beschrieben, in welcher der pharmazeutisch aktive Bestandteil in fein verteilter Form, also mikronisiert vorliegt. Der Wirkstoff ist ein Oxazinon der Formel I und ist innig vermischt mit einer weiteren Komponente in der Zusammensetzung enthalten. Die Zusammensetzung liegt vorzugsweise als orale Formulierung vor.



CH 683824 A5

**Beschreibung**

Die vorliegende Erfindung betrifft eine homogene Zusammensetzung, in der eine pharmakologisch wirksame Komponente in Form von Mikropartikeln oder Mikrokörnchen anwesend ist.

Der aktive Bestandteil der erfindungsgemässen Zusammensetzungen ist in der U.S. Patentschrift Nr. 4 892 870 beschrieben, in welcher dieser als Dihydro-4-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxy-benzyliden)-2-methyl-2H-1,2-oxazin-3(4H)-on bezeichnet wird (siehe Beispiel 2). Diese Verbindung war mit verschiedenen Trägermaterialien formuliert worden, und sie wurde über einen breiten Bereich an Konzentrationen in einer Vielzahl von Formen der Einheitsdosierungen getestet. Dieser aktive Bestandteil ist nützlich bei der Behandlung der schwächenden Wirkung von Entzündungen und Arthritis, und es zeigte sich auch, dass dieser Bestandteil als analgetisches Mittel, als immunomodulierendes Mittel und als antipyretisches Mittel nützlich ist.

Bei der Zugabe dieser Verbindung zu der Gruppe von neuen Medikamenten mit antiarthritischer Wirksamkeit wurden Anstrengungen unternommen, die Bioverfügbarkeit durch neue Freisetzungssysteme zu erhöhen. Es scheint jedoch, dass ein Grenzwert erreicht wurde, und Versuche, die therapeutische Wirksamkeit dieser Verbindungen zu verlängern oder zu erhöhen, hatten keinen Erfolg.

Dementsprechend besteht ein Bedürfnis nach Mitteln, durch welche die Bioverfügbarkeit des Dihydro-4-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyliden)-2-methyl-2H-1,2-oxazin-3(4H)ones erhöht werden und dementsprechend seine therapeutische Wirksamkeit verbessert werden könnte.

**HINTERGRUND DER ERFINDUNG**

In der U.S. Patentschrift Nr. 4 880 623 von R. Piergiorgio wird eine feste pharmazeutische Formulierung beschrieben, in welcher Nifedipin mit Polyäthylenglycol, abgekürzt als «PEG», kombiniert wird und die Mischung auf einem fein verteilten Trägermaterial gemeinsam ausgefällt wird. Gemäss einer anderen Arbeitsweise kann PEG auf eine homogene Mischung des fein verteilten Nifedipins und des Trägermaterials ausgefällt werden. In jedem der beiden Fälle bestand das Ziel darin, die oberflächenaktiven Eigenschaften von PEG auszunützen, so dass beim Trocknen die beschichteten Oberflächen einander abtossen, und die Mikropartikeln gegen die agglomerierenden Effekte zu schützen, die ansonsten auftreten würden.

Die Schwierigkeit bei oberflächenaktiven Mitteln liegt jedoch in ihrem hohen Molekulargewicht und im Zusammenhang mit der Einführung von lipophilen Gruppen und hydrophilen Gruppen in das System. Dem Prinzip nach erhöhen diese Gruppen die Beständigkeit durch eine Erniedrigung der Oberflächenspannungen. In der Praxis ändern sie jedoch auch die physicochemische Natur der verschiedenen Oberflächen, und sie verändern die Beziehung zwischen dem aktiven Bestandteil und den anderen Komponenten der Zusammensetzung.

In der U.S. Patentschrift Nr. 4 938 962 von M. Trebosc wird eine topische Formulierung beschrieben, in welcher Vitamin E und Mikropartikeln eines Metalcarboxylates des Coffeines mit einem unlöslichen wässrig alkoholischen Gel kombiniert werden. Das Ziel bestand darin, ein heterogenes Kosmetikum mit der Fähigkeit einer langsamen Freisetzung zur Verfügung zu stellen, das zur Verwendung als Schlankmachungsmittel bei der Behandlung von Cellulitis vorgesehen ist. Die fein zerteilten Teilchen werden aus dem Gel langsam während eines Zeitraumes freigesetzt, und die Unlöslichkeit des aktiven Bestandteiles in dem Trägermaterial gewährleistet die Wirksamkeit des Produktes.

Obwohl in der oben genannten U.S. Patentschrift von Trebosc eine Verbesserung bei Formulierungen erzielt wird, die äusserlich angewandt werden, so hat das dort beschriebene Arbeitsverfahren keinen Bezug auf solche Zusammensetzungen, bei welchen der wirksame Bestandteil oral verabreicht werden und sofort freigesetzt werden soll.

**BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG**

Ziel der vorliegenden Erfindung war es, Schwierigkeiten zu überwinden, die bei bekannten Systemen auftreten, indem man Zusammensetzungen zur Verfügung stellt, in welchen der aktive Bestandteil, d.h. das Dihydro-4-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyliden)-2-methyl-2H-1,2-oxazin-3(4H)-on in Form von Mikropartikeln oder Mikrokörnchen vorliegt, die einen Durchmesser im Bereich von etwa 5–40 Mikron, vorzugsweise 10–25 Mikron, und speziell bevorzugt, 15–20 Mikron aufweisen. Dieser Bestandteil wird mit Trägermaterialien und/oder Füllstoffen oder ähnlichem kombiniert, wobei sich homogene Zusammensetzungen bilden, die eine erhöhte therapeutische Wirksamkeit zeigen.

Der in den erfindungsgemässen Zusammensetzungen enthaltene Wirkstoff wird synthetisch in Form von Körnchen erhalten, die im allgemeinen einen Durchmesser im Bereich von 0,3–2 mm aufweisen. Bei verschiedenen Untersuchungen wurden diese Teilchen pulverisiert und in fein verteilter Form an Testtiere verabreicht, um, wie angenommen wurde, eine leichter aufnehmbare Form des Wirkstoffes zur Verfügung zu stellen. Im Gegensatz dazu, wurde diese vermutete Wirksamkeit niemals erreicht und dementsprechend hatte man angenommen, dass ein weiteres Vermahlen oder eine Mikronisierung nicht in irgendeinem wesentlichen Ausmass die Ergebnisse verbessern würden, die mit der pulverisierten Verbindung erreicht worden waren.

Ausserdem werden diese Annahmen von den Erläuterungen gestützt, die in der U.S. Patentschrift Nr. 4 840 799 von Appelgren gegeben werden. In dieser Patentschrift wird in Spalte 1, Zeilen 31–33 beschrieben, dass keine vorhersehbaren Zusammenhänge zwischen einer Mikronisierung und einer Bioverfügbarkeit anzutreffen sind, und es wird ferner erwähnt, dass im Gegensatz dazu, die «Bioverfügbarkeit nicht immer verbessert werden kann, indem man ... die Verbindung in Form von sehr feinen Teilchen (mikronisiert) herstellt».

Überraschenderweise hat es sich jetzt jedoch gezeigt, dass das Gegenteil der Fall ist. Durch eine Mikronisierung wurde ganz wesentlich die entzündungshemmende Wirksamkeit des aktiven Bestandteils erhöht. Ausserdem ist das Ausmass der Erhöhung, das auf diese Form der Freisetzung zurückzuführen ist, ein Mehrfaches, und mindestens das Sechsfache desjenigen, das bei dem entsprechenden Produkt in einer nicht mikronisierten Form festgestellt wurde.

#### DURCHFÜHRUNG DES MAHLVERFAHRENS

Das körnige Produkt wurde unter Verwendung eines üblichen Zapfenmahlwerks, also einer Stäbchenmühle (pin mill) mikronisiert, wobei dieses Mahlwerk einen Durchsatz im Bereich von etwa 65–90 Pounds pro Stunde aufwies, um eine minimale Verweilzeit in der Mahlregion zu gewährleisten. Eine einmalige Behandlung war im allgemeinen ausreichend.

Der Mahlvorgang wurde in einer standardisierten Atmosphäre und unter vorgegebenen Temperaturbedingungen durchgeführt, um die gleichmässige Qualität des Produktes zu gewährleisten. Es stellte sich heraus, dass ein Zapfenmahlwerk mit feinem Schlag, wie es von der Firma Alpine hergestellt wird, geeignet ist, um gleichartige Proben eines fein zerkleinerten Produktes wiederholbar herzustellen. Das von der Firma Alpine hergestellte Zapfenmahlwerk mit der Bezeichnung «Alpine mill» ist von der Air Engineering Systems, Corp., Mountain Top, Pennsylvania 1870, USA erhältlich. Dieses Mahlwerk wurde mit einem Bolzen versehen, der so ausgestaltet ist, dass er zur Zuführung von Teilchengrössen im Bereich von etwa 0,1 bis etwa 0,15 Inch geeignet ist, einschliesslich kleiner Produktansätze eines Gewichtes von etwa 1 bis 2 Unzen, wobei fast das gesamte zugesetzte Material wiedergewonnen werden kann.

Obwohl ein Zapfenmahlwerk mit feinem Schlag verwendet wurde, können auch andere Systems angewandt werden, die zu einer Mikronisierung geeignet sind, wie zum Beispiel eine Perlmühle, eine Kugelmühle oder andere ähnliche Vorrichtung, die in der Lage ist, ein fein mikronisiertes Produkt zu liefern. Gemäss einer anderen Ausführungsart kann ein Mikronisator mit der Bezeichnung «Sturtevant Micronizer» verwendet werden, der von der Firma Sturtevant, Inc., Boston, Massachusetts 02122, USA hergestellt wurde, und diese Vorrichtung liefert ein Material, das durch ein Sieb feiner Maschenweite hindurchgeht, wobei die feinen Bestandteile eine Grösse bis hinunter zu 0,5 Mikron aufweisen können. Bei diesem System wird heisse Luft und/oder erhitzter Dampf verwendet, um das Mahlwerk (Walzenmühle) anzutreiben.

Bei einer typischen Arbeitsweise wurde die körnige Form des Dihydro-4-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyliden)-2-methyl-2H-1,2-oxazin-3(4H)-ones in ein Zapfenmahlwerk eingeführt und das Produkt zu einer Teilchengrösse von weniger als 30 Mikron, gemäss einer Bestimmung mit dem Lichtmikroskop, zerkleinert. Die Röntgenstrahlanalyse des gemahlten Produktes zeigt an, dass seine kristalline Struktur unverändert aufrechterhalten wurde.

Das fein zerteilte Produkt, das auf diese Weise erhalten wurde, wurde als Probematerial zur Durchführung der Untersuchungen bezüglich der Entzündungshemmung, der analgetischen Wirksamkeit und der Milderung von Polyarthritis verwendet, und zwar in der Weise, wie dies in der Folge näher erläutert wird.

#### Beispiel 1

##### Herstellung der pharmazeutischen Formulierung

##### Verfahrensschritt A:

##### Herstellung einer mikronisierten Probe

Die Verbindung Dihydro-4-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyliden)-2-methyl-2H-1,2-oxazin-3(4H)-on wurde in ihrem noch nicht mikronisierten Zustand einer Röntgenstrahlanalyse unterworfen, und sie zeigte das Muster einer kristallinen Substanz.

Diese Probe wurde in ein Zapfenmahlwerk, nämlich das Mahlwerk mit der Bezeichnung Fine Impact Mill, 100 UPZ der Firma Alpine, Laboratoriumsmodell, eingeführt, und die Zerkleinerung der Teilchen erfolgte bei einer Einstellung der Geschwindigkeit auf 60%.

Die Teilchengrösse der vermahlten Probe war im Bereich von 10–20 Mikron, gemäss einer Bestimmung mit dem Lichtmikroskop. Die Röntgenstrahlanalyse bestätigte, dass keine sichtbare Veränderung der kristallinen Struktur aufgrund des Vermahlverfahrens aufgetreten war.

Verfahrensschritt B:Herstellung einer pulverisierten Probe

Die im Verfahrensschritt A eingesetzte Verbindung wurde im nicht zerkleinerten Zustand von Hand pulverisiert, indem man sie in einem Mörser mit dem Pistill während 10 Minuten behandelte. Das erhaltene feine Pulver hatte eine Teilchengrösse, welche die feinst mögliche Teilchengrösse war, die durch eine derartige, von Hand ausgeführte Behandlung erhältlich war.

Die Wirkungsweise der Teilchengrösse auf die pharmakologische Wirkung wurde durch eine orale Verabreichung von identischen Dosierungen an Testtiere in standardisierten Untersuchungen bestimmt, wobei die identischen Dosierungen der Proben entweder nach dem Verfahrensschritt A oder dem Verfahrensschritt B hergestellt wurden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden in der Folge erläutert.

Beispiel 2Bestimmung der analgetischen Aktivität

Diese Untersuchung wurde durchgeführt, um die analgetische Wirksamkeit der mikronisierten Probe und der pulverisierten Probe, die gemäss Beispiel 1, Verfahrensschritt A und Beispiel 1, Verfahrensschritt B hergestellt worden waren, zu ermitteln.

Die analgetische Wirkung wurde mit Hilfe des Acetylcholin-Verwindungstests (Acetylcholine-writhing-test) an Mäuse bestimmt, indem man die Modifikation des Testverfahrens anwandte, das von Collier et al. in Nature (New Biol.), Band 204, Seite 1316 (1964) beschrieben ist und im British Journal of Pharmacology, Chemotherapy, Band 32, Seite 295 (1968) beschrieben ist.

Die Testgruppe bestand aus 10 männlichen Mäusen, nämlich CD-1 Mäusen der Charles River Laboratories, und jedes Tier hatte ein Gewicht im Bereich von 18 bis 28 g. Die Testverbindungen wurden in einer 0,25%-igen Lösung von Methylcellulose suspendiert und oral mit Hilfe eines Rohres direkt in den Magen der Tiere verabreicht, und vier Stunden später wurde an die Tiere durch intraperitoneale Injektion Acetylcholin verabreicht, und zwar 0,55 mg/ml in einer 0,25%-igen Lösung von Methylcellulose. Die Anzahl der Verwindungen oder Krümmungen in jeder der Gruppe der Mäuse wurde während 10 Minuten unmittelbar nach der Injektion des Acetylcholins gezählt, und der Prozentsatz der Hemmung wurde nach der folgenden Formel berechnet:

$$\text{Hemmung (\%)} = \frac{\text{Gesamtzahl Verwindungen in Testgruppe}}{\text{Gesamtzahl Verwindungen in Vergleichsgruppe}} \times 100$$

Tabelle I  
Acetylcholin-Verwindungstest

Verbindung	% Hemmung
Beispiel 1, Stufe B (1 mg/kg Körpergewicht), pulverisiert	63
Beispiel 1, Stufe A (1 mg/kg Körpergewicht), mikronisiert	100
Vergleich	0

Diese Testergebnisse zeigen die überragende Wirkung, welche die Mikronisierung auf die analgetische Wirksamkeit ausübt, und zwar verglichen mit der Verwendung einer pulverisierten Form des Wirkstoffs.

Beispiel 3Testung der entzündungshemmenden Wirksamkeit

Die Wirksamkeit der mikronisierten Probe als entzündungshemmendes Mittel im Vergleich zu der entsprechenden pulverisierten Form wurde bestimmt.

Bei dieser Untersuchung wurde eine Modifikation des Arbeitsverfahrens angewandt, das von Wong et al. in dem Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Band 185: No. 1, Seiten 127–138 (1973) beschrieben ist.

Sowohl die linke Hinterpfote als auch die rechte Hinterpfote von weiblichen Lewis Ratten (Charles River Laboratorien) wurde gemessen, indem man die Quecksilberverdrängung vor der Injektion mass, nämlich am Tage Null. Jedes der getesteten Tiere hatte ein Gewicht im Bereich von 160–180 g.

Künstliche Arthritis wurde in der Gruppe dieser Ratten hervorgerufen, indem man eine subkutane Injektion von Mycobacterium butyricum verabreichte, und zwar 0,75 mg in 0,1 ml leichtem Mineralöl ge-

mäss Fisher. Die Injektion wurde unter Verwendung einer automatischen Cornwall Spritze verabreicht. An den Tagen 11–15 nach der Injektion, wurden von den Tieren diejenigen ausgewählt, die ein 0,25–0,76 ml messendes Pfortenödem aufwiesen, und die ausgewählten Tiere wurde gleichmässig nach der Grösse des Ödems in eine Gruppe zu Vergleichszwecken und in eine Gruppe zu Versuchszwecken aufgeteilt, wobei sich in jeder Gruppe 10 Ratten befanden. Willkürlich wurde in den Gruppen an den Tieren eine Behandlung mit Trägermaterial zu Vergleichszwecken bzw. eine medikamentöse Behandlung durchgeführt. Die Tests wurden durchgeführt, indem man 1 mg/kg Körpergewicht pro Tag der zu testenden Verbindung in einer 0,25%-igen Lösung an Methylcellulose als Trägermaterial verabreichte. An alle Tiere wurde die Dosierung einmal pro Tag während vier Tagen verabreicht, und am fünften Tag wurden wiederum die Pfortenvolumina bei der Hinterpfote mit Hilfe der Quecksilberverdrängung bestimmt.

Das Hinterpfotenödem wurde bei jeder Ratte bestimmt, indem man das Hinterpfotenvolumen, das am Tag Null gemessen wurde, vom Hinterpfotenvolumen abzog, das am fünften Tag der Untersuchung gemessen wurde. Die Mittelwerte der Gruppen wurden bestimmt, und die Wirkung des Wirkstoffes wurde als Prozent der Hemmung des Hinterpfotenödems berechnet, und zwar unter Anwendung der folgenden Formel:

$$\% \text{ Hemmung} = \frac{\text{Mittelwert Vergleichsgruppe} - \text{Mittelwert Versuchsgruppe}}{\text{Versuchsgruppe}} \times 100$$

Mittelwert Vergleichsgruppe bedeutet Mittelwert des Ödems der Vergleichsgruppe, und Mittelwert Versuchsgruppe bedeutet Mittelwert des Ödems der Versuchsgruppe.

Tabelle II  
Entzündungshemmende Wirkung

Verbindung	% Hemmung
Beispiel 1, Schritt B (1 mg/kg) pulverisiert	20
Beispiel 1, Schritt A (1 mg/kg) mikronisiert	35
Vergleich	0

Diese Untersuchungen zeigen eine erhöhte entzündungshemmende Wirksamkeit der mikronisierten Proben im Vergleich zur pulverisierten Form der Proben.

#### Beispiel 4 Künstlich hervorgerufene Polyarthrit

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die entzündungshemmende Wirksamkeit der mikronisierten und der nicht mikronisierten Proben bei der oralen Verabreichung an Ratten zu untersuchen, bei denen durch Injektion Polyarthrit hervorgerufen worden war.

Diese Untersuchung der entzündungshemmenden Wirkung wurde nach demjenigen Verfahren durchgeführt, das von Chang, Y., Pearson, C.M. und Abe, C. in «Arthritis and Rheumatism», Band 23, Seiten 62–71 (1980) beschrieben ist.

Männliche Lewis Ratten, bei denen die Gewichte im Bereich von 200 bis 330 g lagen, wurden in Gruppen von je fünf Tieren aufgeteilt, und die Tiere wurden in hängenden Käfigen gehalten, wobei ihnen Nahrung und Wasser frei zur Verfügung stand. Am Tag Null wurde an die Tiere 7,5 mg an N,N-Dioctadecyl-N',N'-bis (2-hydroxyäthyl)propan-diamin, das in Mineralöl suspendiert war, durch subkutane Injektion am Beginn des Schwanzes verabreicht. Am Tage 9 nach der Verabreichung wurden die Tiere gewogen, und die Verabreichung des Wirkstoffes begann. Die mikronisierten Proben und die nicht mikronisierten Proben, die in Beispiel 1, Stufe A, bzw. Stufe B beschrieben sind, wurden in einer Lösung von 1%-iger Carboxymethylcellulose suspendiert, indem man einen Gewebehomogenisator verwendete. Diese Verbindungen wurden oral einmal pro Tag während fünf Tagen verabreicht, nämlich während der Tage 9 bis 13, wobei keine Verabreichung am Tage 14 erfolgte. Am Tage 15 wurde der Hinterfuss gerade oberhalb des Knöchelgelenks abgetrennt und gewogen, und der Prozentsatz des Unterschiedes zu der Gruppe an kranken Vergleichstieren wurde berechnet.

Tabelle III  
Künstlich hervorgerufene Ployarthritis

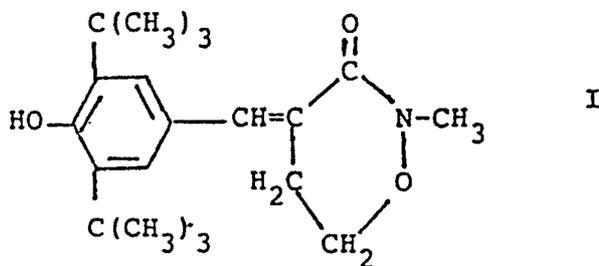
Verbindung	ED50(mg/kg)
Beispiel 1, Stufe B (nicht mikronisiert)	16,2
Beispiel 1, Stufe A (mikronisiert)	2,8

Die mikronisierten Proben zeigten also fast eine sechsfache Erhöhung der Wirksamkeit im Vergleich zu den mikronisierten Proben.

Für den Fachmann auf diesem Gebiet ist es klar, dass die vorangegangenen Beispiele lediglich eine spezielle Ausführungsart der Erfindung veranschaulichen. Für einen Fachmann ist es offensichtlich, dass viele Variationen und Modifikationen durchgeführt werden können, die alle innerhalb des Bereiches der vorliegenden Erfindung liegen.

#### Patentansprüche

1. Zusammensetzung als entzündungshemmendes Arzneimittel, dadurch gekennzeichnet, dass sie als aktiven Bestandteil eine Verbindung der Formel I



in der Form von Mikropartikeln enthält, die einen Durchmesser im Bereich von 5–40 Mikron aufweisen, wobei diese Mikropartikeln in inniger Mischung mit Komponenten der Mischung vorliegen.

2. Zusammensetzung nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der aktive Bestandteil mit einem Trägermaterial oder Verdünnungsmittel kombiniert ist, so dass eine orale Formulierung vorliegt.

3. Zusammensetzung nach Patentanspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der aktive Bestandteil mit einer weiteren Komponente, vorzugsweise mit dem Trägermaterial, homogen vermischt ist.

4. Zusammensetzung gemäss einem der Patentansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikropartikeln einen Durchmesser im Bereich von 10 bis 25 Mikron aufweisen.

5. Zusammensetzung nach Patentanspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikropartikeln einen Durchmesser im Bereich von 15 bis 20 Mikron aufweisen.

6. Zusammensetzung gemäss einem der Patentansprüche 2 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägermaterial aus einem Disaccharid besteht oder ein Disaccharid enthält.

7. Zusammensetzung nach Patentanspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Trägermaterial Lactose enthält oder aus Lactose besteht.

8. Zusammensetzung nach einem der Patentansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass sie in der Form von oral zu verabreichenden Tabletten vorliegt.