



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 601 33 555 T2** 2008.09.18

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 299 348 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **601 33 555.4**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US01/21073**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 952 394.3**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2002/002509**

(86) PCT-Anmeldetag: **29.06.2001**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **10.01.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **09.04.2003**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **09.04.2008**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **18.09.2008**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **C07C 233/00** (2006.01)  
**C07C 229/00** (2006.01)

(30) Unionspriorität:

**214893 P 29.06.2000 US**

(73) Patentinhaber:

**Emisphere Technologies, Inc., Cedar Knolls, N.J.,  
US**

(74) Vertreter:

**Grünecker, Kinkeldey, Stockmair &  
Schwanhäusser, 80802 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR**

(72) Erfinder:

**WEIDNER, John J., Wappingers Falls, NY 12590,  
US; VARIANO, Bruce F., White plains, NY 10606,  
US; MAJURU, Shingai, Brewster, NY 10509, US;  
BHANKARKAR, Satej, Exton, PA 19341, US; BAY,  
William E., Ridgefield, CT 06877, US; SHIELDS,  
Lynn, Port Chester, NY 10573, US**

(54) Bezeichnung: **VERBINDUNGEN UND GEMISCHE ZUR VERABREICHUNG EINES AKTIVEN AGENS**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

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**

**[0001]** Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf Verbindungen zum Verabreichen bzw. Transport von biologisch aktiven Wirkstoffen zu einem Ziel. Diese Verbindungen eignen sich gut zum Bilden von nicht-kovalenten Mischungen mit Wirkstoffen für orale, intrakolische, pulmonale oder andere Wege der Verabreichung an Tiere. Verfahren zur Herstellung und Verabreichung von solchen Zusammensetzungen werden ebenfalls offenbart.

**[0002]** Herkömmliche Mittel zum Verabreichen von Wirkstoffen sind häufig durch biologische, chemische und physikalische Schranken stark eingeschränkt. Typischerweise werden diese Schranken durch die Umgebung, durch welche die Verabreichung erfolgt, die Umgebung des Ziels für die Verabreichung und/oder das Ziel selbst auferlegt. Biologisch und chemisch aktive Wirkstoffe sind für solche Schranken besonders anfällig.

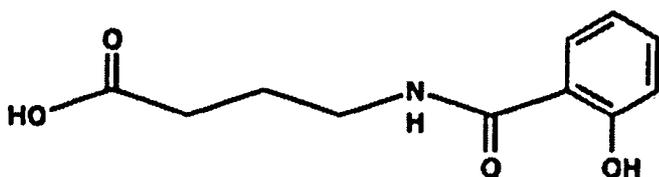
**[0003]** Bei der Verabreichung von biologisch aktiven und chemisch aktiven pharmakologischen und therapeutischen Mitteln an Tiere werden Schranken vom Körper auferlegt. Beispiele für physikalische Schranken sind die Haut, Lipiddoppelschichten und verschiedene Organmembranen, welche für bestimmte Wirkstoffe relativ undurchlässig sind, aber vor dem Erreichen eines Ziels, wie etwa des Kreislaufsystems, überquert werden müssen. Zu chemischen Schranken gehören pH-Schwankungen im Gastrointestinaltrakt (GI-Trakt) und abbauende Enzyme, sie sind aber nicht darauf beschränkt.

**[0004]** Diese Schranken sind von besonderer Bedeutung bei der Planung von oralen Verabreichungssystemen. Die orale Verabreichung von vielen biologisch oder chemisch aktiven Wirkstoffen wäre der Weg der Wahl zur Verabreichung an Tiere, wenn es nicht biologische, chemische und physikalische Schranken gäbe. Zu den zahlreichen Wirkstoffen, welche sich typischerweise nicht für eine orale Verabreichung eignen, gehören biologisch oder chemisch aktive Peptide, wie Calcitonin und Insulin; Polysaccharide und insbesondere Mucopolysaccharide, einschließlich, aber nicht beschränkt auf Heparin; Heparinoide; Antibiotika; und andere organische Substanzen. Diese Wirkstoffe werden im Gastrointestinaltrakt durch Säurehydrolyse, Enzyme und dergleichen rasch unwirksam gemacht oder zerstört. Außerdem kann die Größe und Struktur von makromolekularen Arzneimitteln eine Absorption verhindern.

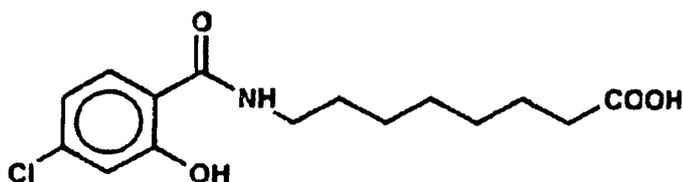
**[0005]** Frühere Verfahren zum oralen Verabreichen von empfindlichen pharmakologischen Wirkstoffen beruhen auf der gleichzeitigen Verabreichung (Co-Verabreichung) von Adjuvanzen (z. B. Resorcinole und nicht-ionischen oberflächenaktiven Stoffen wie Polyoxyethylenoleylether und n-Hexadecylpolyethylenether) zum künstlichen Erhöhen der Permeabilität der Darmwände sowie der gleichzeitigen Verabreichung von Enzyminhibitoren (z. B. Pankreas-Trypsin-Inhibitoren, Diisopropylfluorophosphat (DFF) und Trasylol) zum Hemmen des enzymatischen Abbaus. Liposome sind ebenfalls als Arzneimittelverabreichungssysteme für Insulin und Heparin beschrieben worden. Eine verbreitete Verwendung solcher Arzneimittelverabreichungssysteme ist jedoch ausgeschlossen, weil: (1) die Systeme toxische Mengen von Adjuvanzen oder Inhibitoren erfordern; (2) geeignetes Ladegut mit niedrigem Molekulargewicht, d. h. Wirkstoffe, nicht zur Verfügung stehen; (3) die Systeme eine geringe Stabilität und eine unzureichende Lagerbeständigkeit aufweisen; (4) die Systeme schwierig herzustellen sind; (5) die Systeme nicht in der Lage sind, den Wirkstoff (das Ladegut) zu schützen; (6) die Systeme den Wirkstoff nachteilig verändern; oder (7) die Systeme nicht in der Lage sind, die Absorption des Wirkstoffes zuzulassen oder zu fördern.

**[0006]** In letzter Zeit wurden Proteinoid-Mikrokügelchen zum Verabreichen von Pharmazeutika verwendet. Siehe z. B. US 5,401,516, US 5,443,841 und US RE 35,862. Außerdem wurden bestimmte modifizierte Aminosäuren zum Verabreichen von Pharmazeutika verwendet. Siehe z. B. US 5,629,020; US 5,643,957; US 5,766,633; US 5,776,888; und US 5,866,536.

**[0007]** WO 96/30036 offenbart Verbindungen und Zusammensetzungen zum Verabreichen von Wirkstoffen, wie etwa die folgende Verbindung:

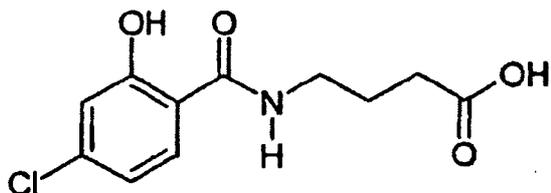


**[0008]** WO 98/34632 offenbart Verbindungen und Zusammensetzungen zum Verabreichen von Wirkstoffen, wie etwa die folgende Verbindung:



[0009] Die der vorliegenden Erfindung zugrundeliegende Aufgabe ist es, ein einfaches, kostengünstiges Verabreichungssystem bereitzustellen, welches leicht hergestellt wird und welches einen breiten Bereich von Wirkstoffen auf verschiedenen Wegen verabreichen kann.

[0010] Die Aufgabe wird gelöst durch eine Verbindung der Formel



Verbindung 1

oder ein Salz davon.

[0011] In einer anderen Ausführungsform ist die Erfindung auf eine Zusammensetzung gerichtet, die wenigstens einen biologisch aktiven Wirkstoff und wenigstens eines von der Verbindung 1 oder einem Salz davon umfasst. Verfahren zur Herstellung und Verabreichung von solchen Zusammensetzungen werden ebenfalls bereitgestellt.

[0012] Ebenfalls bereitgestellt werden Dosierungseinheitsformen, welche die Zusammensetzungen umfassen. Die Dosierungseinheitsform kann in Form eines Feststoffs (wie etwa eine Tablette, eine Kapsel oder ein Partikel wie etwa ein Pulver oder eine Portionspackung) oder einer Flüssigkeit vorliegen.

[0013] Verfahren zum Verabreichen eines biologisch aktiven Wirkstoffs an ein Tier, welches diesen Wirkstoff benötigt, insbesondere auf den oralen, intrakolischen oder pulmonalen Wegen, mit den Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung sowie Verfahren zur Behandlung unter Verwendung solcher Zusammensetzungen werden ebenfalls bereitgestellt. Ein Verfahren zum Behandeln einer Erkrankung bei einem Tier, welches das Verabreichen einer Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung an das Tier, welches diese benötigt, umfasst, wird bereitgestellt.

#### Ausführliche Beschreibung der Erfindung Verbindungen

[0014] Die Verbindungen können in Form der Carbonsäure und/oder ihrer Salze vorliegen. Zu den Salzen gehören organische und anorganische Salze, z. B. Salze von Alkalimetallen, wie Natrium, Kalium und Lithium; Salze von Erdalkalimetallen, wie Magnesium, Calcium oder Barium; Ammoniumsalze; basische Aminosäuren, wie Lysin oder Arginin; und organische Amine, wie Dimethylamin oder Pyridin, sie sind aber nicht darauf beschränkt. Vorzugsweise sind die Salze Natriumsalze. Die Salze können ein- oder mehrwertige Salze sein, wie etwa Mononatriumsalze und Dinatriumsalze. Die Salze können auch Solvate sein, einschließlich Ethanol-solvate.

[0015] Außerdem können Polyaminosäuren und Peptide, die eine oder mehrere von diesen Verbindungen umfassen, verwendet werden.

[0016] Eine Aminosäure ist eine beliebige Carbonsäure mit wenigstens einer freien Aminogruppe und schließt in der Natur vorkommende und synthetische Aminosäuren ein. Polyaminosäuren sind entweder Peptide (welche zwei oder mehr durch eine Peptidbindung verbundene Aminosäuren sind) oder sind zwei oder mehr Aminosäuren, die durch eine Bindung verbunden sind, welche durch andere Gruppen gebildet wird, welche z. B. durch eine Ester- oder eine Anhydridbindung verbunden sein können. Die Länge der Peptide kann von Dipeptiden mit zwei Aminosäuren bis zu Polypeptiden mit mehreren hundert Aminosäuren variieren. Eine oder mehrere der Aminosäuren oder Peptideinheiten können acyliert oder sulfoniert sein.

[0017] Die in dieser Anmeldung beschriebenen Verbindungen können von Aminosäuren abgeleitet sein und

können durch Verfahren, die dem Fachmann bekannt sind, auf der Grundlage der vorliegenden Beschreibung und der in WO 96/30036, WO 97/36480, US 5,643,957 und US 5,650,386 beschriebenen Verfahren leicht aus Aminosäuren hergestellt werden. Zum Beispiel können die Verbindungen hergestellt werden durch Umsetzen der einzelnen Aminosäure mit dem passenden Acylierungsmittel oder aminmodifizierenden Mittel, welches mit einer in der Aminosäure vorhandenen freien Aminoeinheit unter Bildung von Amiden reagiert. Schutzgruppen können verwendet werden, um unerwünschte Nebenreaktionen zu vermeiden, wie dem Fachmann bekannt ist. Im Hinblick auf Schutzgruppen wird auf T. W. Greene, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Wiley, New York (1981) verwiesen, wobei dessen Offenbarung hiermit durch Bezugnahme in diese Anmeldung aufgenommen ist.

**[0018]** Salze der Verbindung der vorliegenden Erfindung können durch im Stand der Technik bekannte Verfahren hergestellt werden. Zum Beispiel können Natriumsalze durch Auflösen der Verbindung in Ethanol und Zugabe von wässrigem Natriumhydroxid hergestellt werden.

**[0019]** Die Verbindung kann durch Umkristallisation oder durch Fraktionierung an einem oder mehreren festen chromatografischen Trägern, allein oder in Tandemanordnung verbunden, gereinigt werden. Zu geeigneten Lösungsmittelsystemen für die Umkristallisation gehören Acetonitril, Methanol und Tetrahydrofuran, sie sind aber nicht darauf beschränkt. Die Fraktionierung kann an einem geeigneten chromatografischen Träger, wie Aluminiumoxid, unter Verwendung von Methanol/n-Propanol-Gemischen als die mobile Phase; durch Umkehrphasenchromatografie unter Verwendung von Trifluoressigsäure/Acetonitril-Gemischen als die mobile Phase; und durch Ionenaustauschchromatografie unter Verwendung von Wasser oder einem geeigneten Puffer als die mobile Phase durchgeführt werden. Wenn eine Anionenaustauschchromatografie durchgeführt wird, wird vorzugsweise ein 0–500 mM Natriumchloridgradient eingesetzt.

**[0020]** Gemäß einer Ausführungsform wird die Verbindung in ihrer wasserfreien Form eingesetzt.

#### Wirkstoffe

**[0021]** Wirkstoffe, die sich zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung eignen, sind biologisch aktive Wirkstoffe, einschließlich, aber nicht beschränkt auf Pestizide, pharmakologische Wirkstoffe und therapeutische Wirkstoffe.

**[0022]** Zu biologisch aktiven Wirkstoffen, die sich zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung eignen, gehören z. B. Proteine; Polypeptide; Peptide; Hormone; Polysaccharide und insbesondere Mischungen von Mucopolysacchariden; Kohlenhydrate; Lipide; andere organische Verbindungen; und insbesondere Verbindungen, welche von selbst nicht durch die gastrointestinale Schleimhaut hindurchgehen (oder von denen nur ein Bruchteil der verabreichten Dosis hindurchgeht) und/oder für eine chemische Spaltung durch Säuren und Enzyme im Gastrointestinaltrakt anfällig sind; oder eine beliebige Kombination davon, sie sind aber nicht darauf beschränkt.

**[0023]** Zu weiteren Beispielen gehören die Folgenden, einschließlich synthetischer, natürlicher oder rekombinanter Quellen davon: Wachstumshormone, die menschliche Wachstumshormone (hGH), rekombinante menschliche Wachstumshormone (rhGH), Rinderwachstumshormone und Schweinewachstumshormone bzw. schweineartige Wachstumshormone einschließen; Wachstumshormon freisetzende Hormone; Interferone, einschließlich  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  Interleukin-1; Interleukin-2; Insulin, das Schweineinsulin bzw. schweineartiges Insulin, Rinderinsulin, menschliches Insulin und menschliches rekombinantes Insulin einschließt, das gegebenenfalls Gegenionen, einschließlich Natrium, Zink, Calcium und Ammonium aufweist; insulinartiger Wachstumsfaktor, einschließlich IGF-1; Heparin, das unfraktionierte Heparin, Heparinoide, Dermatane, Chondroitine, Heparin mit niedrigem Molekulargewicht, Heparin mit sehr niedrigem Molekulargewicht und Heparin mit ultraniedrigem Molekulargewicht einschließt; Calcitonin, das Lachs-Calcitonin, Aal-Calcitonin, Schweine-Calcitonin und menschliches Calcitonin einschließt; Erythropoietin; atrialer natriuretischer Faktor; Antigene, monoklonale Antikörper; Somatostatin; Protease-Inhibitoren; Adrenocorticotropin, Gonadotropinfreisetzendes Hormon; Oxytocin; luteinisierendes Hormon-freisetzendes Hormon; Follikelstimulierendes Hormon; Glucocerebrosidase; Thrombopoietin; Filgrastim; Prostaglandine; Cyclosporin; Vasopressin; Cromolyn-Natrium (Natrium- oder Dinatrium-Chromoglycinsäure); Vancomycin; Desferrioxamin (DFO); Parathyroidhormon (PTH), einschließlich seiner Fragmente; antimikrobielle Substanzen, einschließlich Antimykotika; Vitamine, Analoga, Fragmente, Mimika oder Polyethylenglycol(PEG)-modifizierte Derivate dieser Verbindungen; oder eine beliebige Kombination davon, sie sind aber nicht darauf beschränkt. Weitere geeignete Formen von Insulin, welche synthetische Formen von Insulin einschließen, aber nicht darauf beschränkt sind, sind in den US-Patenten Nr. 4,421,685, 5,474,978 und 5,534,488 beschrieben, von denen jedes hiermit durch Bezugnahme in Gänze in diese Anmel-

dung aufgenommen ist.

#### Verabreichungssysteme

**[0024]** Die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung umfassen ein Verabreichungsmittel und einen oder mehrere Wirkstoffe. In einer Ausführungsform können eine oder mehrere der Verabreichungsmittelverbindungen oder Salze von diesen Verbindungen oder Polyaminosäuren oder Peptide, von denen diese Verbindungen oder Salze eine oder mehrere ihrer Einheiten bilden, als ein Verabreichungsmittel durch Vermischen mit dem Wirkstoff vor der Verabreichung verwendet werden.

**[0025]** Die Verabreichungszusammensetzungen können in Form einer Flüssigkeit vorliegen. Der Dosierträger kann Wasser (z. B. für Lachs-Calcitonin, Parathyroidhormon und Erythropoietin), 25 %iges wässriges Propylenglycol (z. B. für Heparin) und Phosphatpuffer (z. B. für rhGH) sein. Zu weiteren Dosierträgern gehören Polyethylenglycole, Sorbitol, Maltitol und Sucrose. Dosierungslösungen können durch Vermischen einer Lösung der Verabreichungsmittelverbindung mit einer Lösung des Wirkstoffs unmittelbar vor der Verabreichung hergestellt werden. Alternativ kann eine Lösung des Verabreichungsmittels (oder Wirkstoffs) mit der festen Form des Wirkstoffs (oder Verabreichungsmittels) vermischt werden. Die Verabreichungsmittelverbindung und der Wirkstoff können auch als trockene Pulver vermischt werden. Die Verabreichungsmittelverbindung und der Wirkstoff können auch während des Herstellungsverfahrens zusammengemischt werden.

**[0026]** Die Dosierungslösungen können optional Zusätze wie Phosphatpuffersalze, Citronensäure, Glycole oder andere Dispergiermittel enthalten. Stabilisierende Zusätze können in die Lösung aufgenommen werden, vorzugsweise mit einer Konzentration im Bereich zwischen ungefähr 0,1 und 20% (Gew./Vol.).

**[0027]** Die Verabreichungszusammensetzungen können alternativ in Form eines Feststoffs, wie etwa einer Tablette, einer Kapsel oder eines Partikels, wie etwa eines Pulvers oder einer Portionspackung vorliegen. Feste Dosierungsformen können durch Vermischen der festen Form der Verbindung mit der festen Form des Wirkstoffs hergestellt werden. Alternativ kann ein Feststoff aus einer Lösung der Verbindung und des Wirkstoffs durch im Stand der Technik bekannte Verfahren, wie etwa Gefriertrocknen, Fällung, Kristallisation und Feststoffdispergierung, erhalten werden.

**[0028]** Die Verabreichungszusammensetzungen der vorliegenden Erfindung können auch einen oder mehrere Enzyminhibitoren einschließen. Zu solchen Enzyminhibitoren gehören Verbindungen, wie Actinonin oder Epiactinonin und Derivate davon, sie sind aber nicht darauf beschränkt. Zu anderen Enzyminhibitoren gehören Aprotinin (Trasylol) und der Bowman-Birk-Inhibitor, sie sind aber nicht darauf beschränkt.

**[0029]** Die Menge an Wirkstoff, die in einer Verabreichungszusammensetzung der vorliegenden Erfindung verwendet wird, ist eine Menge, die zum Erreichen des Zwecks des bestimmten Wirkstoffs für die Zielindikation wirksam ist. Die Menge des Wirkstoffs in den Zusammensetzungen ist typischerweise eine pharmakologisch, biologisch oder therapeutisch wirksame Menge. Die Menge kann jedoch weniger als diese Menge sein, wenn die Zusammensetzung in einer Dosierungseinheitsform verwendet wird, da die Dosierungseinheitsform eine Mehrzahl von Verbindung/Wirkstoff-Zusammensetzungen enthalten kann oder eine abgeteilte pharmakologisch, biologisch oder therapeutisch wirksame Menge enthalten kann. Die gesamte wirksame Menge kann dann in kumulativen Einheiten verabreicht werden, welche insgesamt eine wirksame Menge des Wirkstoffs enthalten.

**[0030]** Die Gesamtmenge des Wirkstoffs, die verwendet werden soll, kann durch dem Fachmann bekannte Verfahren bestimmt werden. Da jedoch die Zusammensetzungen Wirkstoffe effizienter verabreichen können als Zusammensetzungen des Standes der Technik, können niedrigere Mengen an biologisch aktiven Wirkstoffen als die in Dosierungseinheitsformen oder Verabreichungssystemen des Standes der Technik verwendeten dem Subjekt verabreicht werden, wobei dennoch die gleichen Blutspiegel und/oder therapeutischen Wirkungen erzielt werden.

**[0031]** Die gegenwärtig offenbarten Verbindungen verabreichen biologisch aktive Wirkstoffe, insbesondere in oralen, intranasalen, sublingualen, intraduodenalen, subkutanen, bukkalen, intrakolischen, rektalen, vaginalen, mukosalen, pulmonalen, transdermalen, intradermalen, parenteralen, intravenösen, intramuskulären und okularen Systemen, und überschreiten auch die Blut-Hirn-Schranke.

**[0032]** Dosierungseinheitsformen können auch ein beliebiges oder eine Kombination von Hilfsstoffen, Streckmitteln, Zerfallhilfsmitteln, Gleitmitteln, Weichmachern, Farbstoffen, Aromastoffen, Geschmacksmaskierungs-

mitteln, Zuckern, Süßungsmitteln, Salzen und Dosierträgern enthalten, einschließlich, aber nicht beschränkt auf Wasser, 1,2-Propandiol, Ethanol, Olivenöl oder eine beliebige Kombination davon.

**[0033]** Die Verbindungen und Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung sind zum Verabreichen von biologisch aktiven Wirkstoffen an beliebige Tiere brauchbar, einschließlich, aber nicht beschränkt auf Vögel wie Hühner; Säuger, wie Nagetiere, Kühe, Schweine, Hunde, Katzen, Primaten und insbesondere Menschen; und Insekten.

**[0034]** Das System ist besonders vorteilhaft zum Verabreichen von biologisch aktiven Wirkstoffen, welche andernfalls durch Bedingungen, die angetroffen werden, bevor der Wirkstoff seine Zielzone (d. h. den Bereich, in dem der Wirkstoff der Verabreichungszusammensetzung freigesetzt werden soll) erreicht, und im Körper des Tieres, an das sie verabreicht werden, zerstört oder weniger wirksam gemacht würden. Insbesondere sind die Verbindungen und Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung beim oralen Verabreichen von Wirkstoffen, insbesondere solchen, die gewöhnlich nicht oral verabreichbar sind, oder solchen, für die eine verbesserte Verabreichung erwünscht ist, brauchbar.

**[0035]** Die Zusammensetzungen, welche die Verbindungen und Wirkstoffe umfassen, sind brauchbar bei der Verabreichung von Wirkstoffen an ausgewählte biologische Systeme und mit einer erhöhten oder verbesserten Bioverfügbarkeit des Wirkstoffs im Vergleich zur Verabreichung des Wirkstoffs ohne das Verabreichungsmittel. Die Verabreichung kann durch Verabreichen von mehr Wirkstoff über einen Zeitraum oder durch Verabreichen von Wirkstoff in einem bestimmten Zeitraum (z. B. zum Bewirken einer schnelleren oder verzögerten Verabreichung) oder über einen Zeitraum (z. B. bei einer anhaltenden Verabreichung) verbessert werden.

**[0036]** Nach der Verabreichung wird der in der Zusammensetzung oder Dosierungseinheitsform vorhandene Wirkstoff in den Kreislauf aufgenommen. Die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffs kann leicht durch Messen einer bekannten pharmakologischen Aktivität in Blut, z. B. einer Erhöhung der Blutgerinnungszeit, die durch Heparin verursacht wird, oder einer Abnahme der zirkulierenden Calciumspiegel, die durch Calcitonin verursacht wird, bestimmt werden. Alternativ können die zirkulierenden Spiegel des Wirkstoffs selbst direkt gemessen werden.

#### Beschreibung der bevorzugten Ausführungsformen

**[0037]** Die folgenden Beispiele veranschaulichen die Erfindung ohne Einschränkung. Alle Teile sind Gewichtsteile, sofern nichts anderes angegeben ist.

#### Beispiel 1 – Herstellung einer Verbindung

##### 1a. Herstellung von Verbindung 1

**[0038]** 4-Chlorsalicylsäure (10,0 g, 0,0579 mol) wurde zu einem 250 ml-Einhalsrundkolben zugegeben, der ungefähr 50 ml Methylenchlorid enthielt. Das Rühren wurde begonnen und für den Rest der Reaktion fortgesetzt. Das Kupplungsreagens 1,1-Carbonyldiimidazol (9,39 g, 0,0579 mol) wurde als ein Feststoff in Portionen zu dem Kolben zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde ungefähr 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, nachdem das gesamte Kupplungsreagens zugegeben worden war, und dann wurde Ethyl-4-aminobutyrat-hydrochlorid (9,7 g, 0,0579 mol) unter Rühren zu dem Kolben zugegeben. Triethylamin (10,49 ml, 0,0752 mol) wurde tropfenweise aus einem Zugabetrichter zugegeben. Der Zugabetrichter wurde mit Methylenchlorid gespült. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur über Nacht rühren gelassen.

**[0039]** Das Reaktionsgemisch wurde in einen Scheidetrichter gegossen und mit 2N HCl gewaschen und es bildete sich eine Emulsion. Die Emulsion wurde zwei Tage lang stehen gelassen. Dann wurde die Emulsion in einer Glasfilternutsche durch Celite filtriert. Das Filtrat wurde in einen Scheidetrichter zurückgegeben, um die Schichten zu trennen. Die organische Schicht wurde über Natriumsulfat getrocknet, welches dann abfiltriert wurde, und das Filtrat wurde durch Rotationsverdampfung konzentriert. Das resultierende feste Material wurde mit 2N NaOH hydrolysiert, unter Kühlung über Nacht aufbewahrt und anschließend wurde das Hydrolysieren wieder aufgenommen. Die Lösung wurde mit 2N HCl angesäuert und die Feststoffe, welche sich bildeten, wurden isoliert, unter Vakuum getrocknet und zweimal umkristallisiert, wobei Methanol/Wasser verwendet wurde. Über Nacht fielen Feststoffe aus und wurden isoliert und getrocknet. Die Feststoffe wurden in 2N NaOH gelöst und der pH der Probe wurde mit 2N HCl auf pH 5 gebracht. Die Feststoffe wurden gesammelt und die HPLC zeigte einen einzigen Peak. Diese Feststoffe wurden dann in Methanol/Wasser umkristallisiert, isoliert und dann unter Vakuum getrocknet, wobei 4,96 g (33,0 %) 4-(4-Chlor-2-hydroxybenzoyl)aminobuttersäure erhalten wurde. ( $C_{11}H_{12}ClNO_4$ ; Molekulargewicht 257,67). Schmelzpunkt: 131–133°C. Verbrennungsanalyse: % C:

51,27 (berechnet), 51,27 (gefunden); % H: 4,69 (berechnet), 4,55 (gefunden); % N: 5,44 (berechnet), 5,30 (gefunden). H-NMR-Analyse: ( $d_6$ -DMSO):  $\delta$  13,0, s, 1H (COOH);  $\delta$  12,1, s, 1H (OH);  $\delta$  8,9, t, 1H (NH);  $\delta$  7,86, d, 1H (H ortho zu Amid);  $\delta$  6,98, d, 1H (H ortho zu Phenol OH);  $\delta$  6,96, d, 1H, (H meta zu Amid);  $\delta$  3,33, m, 2H ( $CH_2$  benachbart zu NH);  $\delta$  2,28, t, 2H ( $CH_2$  benachbart zu COOH);  $\delta$  1,80, m, 2H (aliphatisches  $CH_2$  beta zu NH und  $CH_2$  beta zu COOH).

#### 1b. Weitere Herstellung von Verbindung 1

**[0040]** 4-Chlorsalicylsäure (25,0 g, 0,1448 mol) wurde zu einem 250 ml-Einhalsrundkolben zugegeben, der ungefähr 75–100 ml Methylenchlorid enthielt. Das Rühren wurde begonnen und für den Rest der Reaktionen fortgesetzt. Das Kupplungsreagens 1,1-Carbonyldiimidazol (23,5 g, 0,1448 mol) wurde als ein Feststoff in Portionen zu dem Kolben zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde ungefähr 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, nachdem das gesamte Kupplungsreagens zugegeben worden war, und dann wurde Ethyl-4-aminobutyrylhydrochlorid (24,3 g, 0,1448 mol) zu dem Kolben unter Rühren zugegeben. Triethylamin (26,0 ml, 0,18824 mol) wurde tropfenweise aus einem Zugabetrichter zugegeben. Der Zugabetrichter wurde mit Methylenchlorid gespült. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur über Nacht rühren gelassen.

**[0041]** Das Reaktionsgemisch wurde in einen Scheidetrichter gegossen und mit 2N HCl gewaschen und es bildete sich eine Emulsion. Die Emulsion wurde in einer Glasfilternutsche durch Celite filtriert. Das Filtrat wurde in einen Scheidetrichter zurückgegeben, um die Schichten zu trennen. Die organische Schicht wurde mit Wasser und Salzlösung gewaschen, dann über Natriumsulfat getrocknet, welches anschließend abfiltriert wurde, und das Filtrat wurde durch Rotationsverdampfung konzentriert. Das resultierende feste Material wurde über Nacht mit 2N NaOH hydrolysiert. Die Lösung wurde mit 2N HCl angesäuert und die braunen Feststoffe, welche sich bildeten, wurden unter Verwendung von Methanol/Wasser umkristallisiert, wobei unlösliches schwarzes Material heiß abfiltriert wurde. Es fielen weiße Feststoffe aus und wurden isoliert und getrocknet, wobei 11,68 g (37,0%) 4-(4-Chlor-2-hydroxybenzoyl)aminobuttersäure erhalten wurde. ( $C_{11}H_{12}ClNO_4$ ; Molekulargewicht 257,67). Schmelzpunkt: 129–133°C. Verbrennungsanalyse: % C: 51,27 (berechnet), 51,26 (gefunden); % H: 4,69 (berechnet), 4,75 (gefunden); % N: 5,44 (berechnet), 5,32 (gefunden). H-NMR-Analyse: ( $d_6$ -DMSO):  $\delta$  13,0, s, 1H (COOH);  $\delta$  12,1, s, 1H (OH);  $\delta$  8,9, t, 1H (NH);  $\delta$  7,86, d, 1H (H ortho zu Amid);  $\delta$  6,98, d, 1H (H ortho zu Phenol OH);  $\delta$  6,96, d, 1H, (H meta zu Amid);  $\delta$  3,33, m, 2H ( $CH_2$  benachbart zu NH);  $\delta$  2,28, t, 2H ( $CH_2$  benachbart zu COOH);  $\delta$  1,80, m, 2H (aliphatisches  $CH_2$  beta zu NH und  $CH_2$  beta zu COOH).

#### 1c. Weitere Herstellung von Verbindung 1

##### (4-[(4-Chlor-2-hydroxybenzoyl)amino]butansäure)

**[0042]** Ein 22 l-Fünfhalsrundkolben wurde mit einem Rührwerk, einer 1 l-Dean-Stark-Falle mit Rückflusskühler, einer Thermoelementtemperaturanzeige und einem Heizmantel ausgestattet. Die folgende Reaktion wurde unter einer Atmosphäre aus trockenem Stickstoff durchgeführt. Das Reagens n-Butanol (5000 ml) und 4-Chlorsalicylsäure (2000 g, 11,59 mol) wurden in den Reaktionskolben eingefüllt. Die Dean-Stark-Falle wurde mit n-Butanol (1000 ml) gefüllt. Konzentrierte Schwefelsäure (50 g) wurde zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde ungefähr 120 Stunden zum Rückfluss erhitzt. Ungefähr 206 ml Wasser wurden während dieser Zeit in der Falle gesammelt. Der Heizmantel wurde entfernt und das Reaktionsgemisch auf Umgebungstemperatur abkühlen gelassen. Die Dean-Stark-Falle wurde abgelassen und entfernt. Es wurde entionisiertes Wasser (1000 ml) eingefüllt. Das zweiphasige Gemisch wurde 10 Minuten gerührt. Das Rühren wurde beendet und die Phasen sich trennen gelassen. Die untere wässrige Phase wurde abgehebert und verworfen. Eine 10 gew.-%ige wässrige Lösung von Natriumhydrogencarbonat (1000 ml) wurde zu dem Reaktionsgemisch zugegeben. Das Gemisch wurde 10 Minuten gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit pH-Papier getestet, um sicherzustellen, dass der pH der Lösung höher als 7 war. Wasser (500 ml) wurde zu dem Reaktionsgemisch zugegeben. Das Rühren wurde beendet und die Phasen sich trennen gelassen. Die untere wässrige Schicht wurde abgehebert und verworfen. Das Reaktionsgemisch wurde mit einer weiteren 500 ml-Portion von entionisiertem Wasser gewaschen. Der Reaktor wurde für eine atmosphärische Destillation in einen austarierten 5 l-Aufgangbehälter eingerichtet. Das Gemisch wurde destilliert, bis die Blasen temperatur auf 140–150°C anstieg. Die Destillation wurde von atmosphärischer Destillation auf Vakuumdestillation umgestellt. Der Druck in der Destillationsapparatur wurde langsam auf 100 mmHg abgesenkt. Die Blasen temperatur fiel und das verbleibende n-Butanol und n-Butylether (ein Nebenprodukt der Reaktion) destillierten ab. Das Erwärmen wurde beendet und das Reaktionsgemisch auf Umgebungstemperatur abkühlen gelassen. Das Vakuum wurde mit trockenem Stickstoff aufgehoben. Der rohe Butylester wurde in einen 5 l-Destillationskolben einer Vakuumdestillationsapparatur überführt. Der rohe Butylester wurde bei einem Druck zwischen 0,2 und 0,5 mmHg destilliert. Der bei einer Kopf temperatur von < 40°C gesammelte Vorlauf wurde verworfen. Die Butyl-4-chlor-2-hydroxybenzo-

at-Fraktion wurde bei einer Kopftemperatur zwischen 104 und 112°C gesammelt. Diese Fraktion hatte ein Gewicht von 2559 g. Die Ausbeute betrug 96%.

**[0043]** Ein 22 l-Fünfhalsrundkolben wurde mit einem Rührwerk, einem Rückflusskühler, einer Thermoelementtemperaturanzeige und einem Heizmantel ausgestattet. Der Reaktor wurde mit Stickstoff gespült. Butyl-4-chlor-2-hydroxybenzoat (2559 g, 11,2 mol) und das Reagens Methanol (10000 ml) wurden in den Reaktionskolben eingefüllt und der Inhalt wurde gerührt, bis eine Lösung erhalten wurde. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Büchnertrichter filtriert und zu dem Reaktor zurückgeführt. Die Rührgeschwindigkeit wurde erhöht und gasförmiges Ammoniak wurde schnell in dem Kopfraum des Reaktors zugegeben. Die Ammoniakgaszugabe wurde fortgesetzt, bis die Temperatur des Reaktors 45°C erreichte. Die Zugabe des Ammoniaks wurde unterbrochen und die Rührgeschwindigkeit herabgesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Umgebungstemperatur abkühlen gelassen. Die Zugabe von Ammoniakgas, wie vorstehend beschrieben, wurde wiederholt, bis die Reaktion vollständig abgelaufen war, was durch Flüssigchromatografie angezeigt wurde. Es wurden sieben Ammoniakzufuhren im Laufe von fünf Tagen benötigt, um die Reaktion vollständig ablaufen zu lassen. Ungefähr die Hälfte des Lösungsmittels wurde durch atmosphärische Destillation entfernt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Umgebungstemperatur gekühlt und 5 l entionisiertes Wasser wurde zugegeben. Konzentrierte Chlorwasserstoffsäure (ungefähr 500 ml) wurde langsam zu dem Reaktor zugegeben, bis der pH des Reaktionsgemisches zwischen 4 und 5 lag. Der resultierende Niederschlag wurde durch Vakuumfiltration durch eine große Glasfilternutsche gesammelt. Der Filterkuchen des Produkts wurde mit 2000 ml entionisiertem Wasser gewaschen und 32 Stunden bei 50°C getrocknet, wobei 1797 g 4-Chlor-2-hydroxybenzamid erhalten wurden. Die Ausbeute betrug 94%.

**[0044]** Ein 22 l-Fünfhalsrundkolben wurde mit einem Rührwerk, einem Rückflusskühler, einem Zugabetrichter, einer Thermoelementtemperaturanzeige und einem Heizmantel ausgestattet. Der Reaktor wurde mit Stickstoff gespült. Acetonitril (4700 ml) und 4-Chlor-2-hydroxybenzamid (1782 g, 10,4 mol) wurden in den Reaktionskolben eingefüllt und das Rühren wurde begonnen. Pyridin (1133 ml, 14,0 mol) wurde in den Reaktor eingefüllt. Die resultierende Reaktionsaufschlammung wurde mit einem Eisbad auf weniger als 10°C gekühlt. Ethylchlorformiat (1091 ml, 1237 g, 11,4 mol) wurde in den Zugabetrichter gegeben und langsam zu dem gerührten Reaktionsgemisch zugegeben, so dass die Temperatur des Reaktionsgemisches während der Zugabe 15°C nicht überstieg. Die Temperatur des Reaktionsgemisches wurde 30 Minuten zwischen 10 und 15°C gehalten, nachdem die Ethylchlorformiatzugabe beendet war. Das Eisbad wurde entfernt und das Reaktionsgemisch wurde auf Umgebungstemperatur erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde dann langsam zum Rückfluss erhitzt und 18 Stunden bei dieser Temperatur gehalten. Eine Flüssigchromatografie des Reaktionsgemisches zeigte, dass die Reaktion nur zu 80% vollständig war. Ungefähr die Hälfte des Lösungsmittels wurde durch atmosphärische Destillation entfernt. Das Reaktionsgemisch wurde mit einem Eisbad zunächst auf Umgebungstemperatur und anschließend auf < 10°C gekühlt. Zusätzliches Pyridin (215 ml, 2,65 mol) wurde zu dem Reaktionsgemisch zugegeben. Ethylchlorformiat (235 g, 2,17 mol) wurde langsam über einen Zugabetrichter zu dem kalten Reaktionsgemisch zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 30 Minuten lang zwischen 10 und 15°C gehalten, nachdem die Ethylchlorformiatzugabe beendet war. Das Eisbad wurde entfernt und das Reaktionsgemisch wurde auf Umgebungstemperatur erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde dann langsam zum Rückfluss erhitzt und 18 Stunden lang auf dieser Temperatur gehalten, wonach eine Flüssigchromatografie anzeigte, dass die Reaktion vollständig abgelaufen war. Das Reaktionsgemisch wurde mit einem Eisbad zunächst auf Umgebungstemperatur und anschließend < 10°C gekühlt. Wasser (1600 ml) wurde über einen Zugabetrichter langsam zugegeben und die resultierende Aufschlammung 90 Minuten bei < 10°C gehalten. Das feste Produkt wurde durch Vakuumfiltration durch eine große Glasfilternutsche gesammelt. Der Filterkuchen des Produkts wurde mit entionisiertem Wasser gewaschen und bei 50°C 18 Stunden lang vakuumgetrocknet, wobei 1914 g 7-Chlor-2H-1,3-benzoxazin-2,4(3H)-dion als ein gelbbrauner Feststoff erhalten wurden. Die Ausbeute betrug 83%.

**[0045]** Ein 22 l-Fünfhalsrundkolben wurde mit einem Rührwerk, einem Rückflusskühler, einer Thermoelementtemperaturanzeige und einem Heizmantel ausgestattet. Die folgende Reaktion wurde unter einer Atmosphäre aus trockenem Stickstoff durchgeführt. 7-Chlor-2H-1,3-benzoxazin-2,4(3H)-dion (1904 g, 9,64 mol), Ethyl-4-brombutyrat (1313 ml, 9,18 mol) und N,N-Dimethylacetamid (4700 ml) wurden unter einer Stickstoffspülung eingefüllt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 70°C erwärmt. Natriumcarbonat (1119 g, 10,55 mol) wurde in fünf gleichen Portionen über einen Zeitraum von ungefähr 40 Minuten zu der klaren Lösung zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 70°C gehalten. Das Reaktionsgemisch wurde auf 55°C gekühlt. Die anorganischen Feststoffe wurden durch Vakuumfiltration durch eine Glasfilternutsche entfernt. Der Reaktionskolben wurden mit 2B-Ethanol (2000 ml) gespült und diese Spülflüssigkeit wurde zum Waschen des Filterkuchens verwendet. Der Reaktionskolben wurde mit entionisiertem Wasser gereinigt. Das Filtrat wurde in den reinen Reaktionskolben zurückgegeben. Das Filtrat wurde in einem Eisbad gekühlt. Entionisiertes Wasser

(9400 ml) wurde langsam mit einem Zugabetrichter zugegeben. Das gekühlte Gemisch wurde über Nacht rühren gelassen. Die resultierenden Feststoffe wurden durch Vakuumfiltration durch eine Glasfilternutsche zurückgewonnen. Der Produktkuchen wurde mit entionisiertem Wasser gewaschen. Das Ethyl-3-(4-butanoat)-7-chlor-2H-1,3-benzoxazin-2,4-(3H)-dion hatte ein Gewicht von 2476,0 g. Die Ausbeute betrug 82,2%.

**[0046]** Ein 12 l-Edelstahlreaktor wurde mit einem Rührwerk, einem Rückflusskühler, einer Thermoelementtemperaturanzeige, einem Zugabetrichter und einem Heizmantel ausgestattet. Die folgende Reaktion wurde unter einer Atmosphäre aus trockenem Stickstoff durchgeführt. Wasser (3 l) und Ethyl-3-(4-butanoat)-7-chlor-2H-1,3-benzoxazin-2,4-(3H)-dion (1118 g, 3,58 mol) wurden in den Reaktor eingefüllt und das Rühren wurde begonnen. Eine Lösung von Natriumhydroxid (574 g, 14,34 mol) in Wasser (2 l) wurde langsam zu der Reaktionsaufschlämmung zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 6 Stunden auf 70°C erwärmt und anschließend langsam auf Umgebungstemperatur abkühlen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde durch einen Büchnertrichter filtriert.

**[0047]** Ein 22 l-Fünfhalsrundkolben wurde mit einem Rührwerk, einem Rückflusskühler, einer Thermoelementtemperaturanzeige und einem Zugabetrichter ausgestattet. Entionisiertes Wasser (1880 ml) und konzentrierte Chlorwasserstoffsäure (1197 g, 12,04 mol) wurden in den Reaktor eingefüllt. Das Hydrolysat von oben wurde langsam über einen Zugabetrichter zu der Säurelösung zugegeben. Der pH der resultierenden Aufschlämmung wurde durch Zugeben von weiterer Chlorwasserstoffsäure (160 ml, 1,61 mol) auf 3 eingestellt. Die Produktfeststoffe wurden durch Filtration durch eine Glasfilternutsche gesammelt und 24 Stunden in einem Vakuumofen bei 50°C getrocknet, wobei 1109,3 g 4-[(4-Chlor-2-hydroxy-benzoyl)amino]butansäure als ein gebrochen weißer Feststoff erhalten wurde. Die Ausbeute war quantitativ.

Beispiel 1d: Herstellung von wasserfreiem Natrium-4-[(4-chlor-2-hydroxybenzoyl)amino]butanoat

**[0048]** Ein 22 l-Fünfhalsrundkolben wurde mit einem Rührwerk, einem Rückflusskühler, einer Thermoelementtemperaturanzeige und einem Heizmantel ausgestattet. Die folgende Reaktion wurde unter einer Atmosphäre aus trockenem Stickstoff durchgeführt. Das Reagens Aceton (13000 ml) und 4-[(4-Chlor-2-hydroxybenzoyl)amino]butansäure (500,0 g, 1,94 mol) wurden in den Reaktor eingefüllt und das Rühren wurde begonnen. Die Reaktionsaufschlämmung wurde auf 50°C erwärmt, bis eine trübe braune Lösung erhalten wurde. Die warme Lösung wurde durch einen warmen Druckfilter, der mit Whatman #1-Papier versehen war, in einen reinen 22 l-Reaktor gepumpt. Das klare gelbe Filtrat wurde unter Rühren auf 50°C erwärmt. Eine Natriumhydroxidlösung (50 %ig wässrig; 155 g, 1,94 mol) wurde in den Reaktor eingefüllt, wobei ein kräftiges Rühren aufrecht erhalten wurde. Nachdem die Zugabe der Base beendet war, wurde der Reaktor 2,5 Stunden zum Rückfluss (60°C) erhitzt und anschließend langsam auf Umgebungstemperatur abkühlen gelassen. Das Produkt wurde durch Vakuumfiltration durch eine Glasfilternutsche isoliert und 24 Stunden in einem Vakuumofen bei 50°C getrocknet, wobei 527,3 g Natrium-4-[(4-chlor-2-hydroxybenzoyl)amino]butanoat als ein gebrochen weißer Feststoff erhalten wurde. Die Ausbeute betrug 97,2%.

Beispiel 1e: Herstellung eines Kanalhydrats von Natrium-4-[(4-chlor-2-hydroxybenzoyl)-amino]butanoat-mono-hydrat

**[0049]** Ein 22 l-Kolben wurde mit einem Rührwerk ausgestattet. Entionisiertes Wasser (2000 ml) und 4-[(4-Chlor-2-hydroxybenzoyl)amino]-butansäure (380,0 g, 1,47 mol) wurden zugegeben und das Rühren wurde begonnen. Eine Lösung von Natriumhydroxid (59,0 g, 1,48 mol) in Wasser (500 ml) wurde zu dem Reaktor zugegeben. Wasser (1500 ml) wurde zu dem Reaktor zugegeben und die resultierende Aufschlämmung wurde erwärmt, bis eine vollständige Lösung erhalten war. Das Reaktionsgemisch wurde auf Umgebungstemperatur gekühlt und dann unter vermindertem Druck zur Trockne konzentriert. Die resultierenden Feststoffe wurden von dem Kolben abgekratzt und bei 50°C im Vakuum getrocknet, wobei 401,2 g eines Kanalhydrats von Natrium-4-[(4-chlor-2-hydroxybenzoyl)-amino]-butanoat als ein gebrochen weißer Feststoff erhalten wurde. Die Ausbeute betrug 96,9%.

Beispiel 1f: Herstellung von Natrium-4-[(4-chlor-2-hydroxybenzoyl)-amino]butanoat über das Isopropanolsolvat

**[0050]** Ein 1 Liter-Vierhalsrundkolben wurde mit einem Rührwerk, einem Rückflusskühler, einer Thermoelementtemperaturanzeige und einem Heizmantel ausgestattet. Die folgende Reaktion wurde unter einer Atmosphäre aus trockenem Stickstoff durchgeführt. Isopropanol (400 ml) und 4-[(4-Chlor-2-hydroxybenzoyl)amino]butansäure (25,0 g, 0,09 mol) wurden in den Reaktor eingefüllt und das Rühren wurde begonnen. Die Reaktionsaufschlämmung wurde auf 50°C erwärmt, bis eine trübe braune Lösung erhalten wurde. Die warme Lö-

sung wurde durch einen warmen Druckfilter, der mit Whatman #1-Papier versehen war, in einen reinen 1 l-Reaktor filtriert. Das klare gelbe Filtrat wurde unter Rühren auf 62°C erwärmt. Eine Natriumhydroxidlösung (50% wässrig, 7,2 g, 0,09 mol) wurde in den Reaktor eingefüllt, wobei ein kräftiges Rühren beibehalten wurde. Nachdem die Zugabe der Base beendet war, wurde der Reaktor zum Rückfluss (72 °C) erwärmt und anschließend langsam auf Umgebungstemperatur abkühlen gelassen. Das Produkt wurde durch Vakuumfiltration durch eine Glasfilternutsche isoliert und 24 Stunden bei 50°C im Vakuum getrocknet, wobei 23,16 g Natrium-4-[(4-chlor-2-hydroxybenzoyl)amino]butanoat als ein gebrochen weißer Feststoff erhalten wurde. Die Ausbeute betrug 92%.

#### Beispiel 1 g: Kapselherstellung

**[0051]** Kapseln zur Verabreichung an Primaten, welche das Mononatriumsalz von Verbindung 1 (wie in Beispiel 1 d hergestellt) und Insulin enthielten, wurden wie folgt hergestellt. Das Mononatriumsalz von Verbindung 1 und von Proinsulin abgeleitete Zink-Humaninsulinkristalle QA307X (Herkunft von rekombinanter DNA) (erhältlich von Eli-Lilly & Co. in Indianapolis, IN) wurden zunächst durch ein 35 mesh Tyler-Standardsieb gesiebt und die erforderliche Menge wurde abgewogen. Das gesiebte Mononatriumsalz von Verbindung 1 und Insulin wurden unter Verwendung eines geometrischen Siebverfahrens in einem Glasmörser geeigneter Größe vermischt. Die Materialien in dem Mörser wurden mit einem Glaspistill gut vermischt. Ein Spatel wurde verwendet, um die Seiten des Mörsers abzukratzen. Die resultierende Formulierung wurde in ein Kunststoffwägeschiffchen zur Kapselfüllung überführt. Die Formulierung wurde von Hand in Torpac-Hartgelatinekapseln der Größe #0 (erhältlich von Torpac, Inc. in Fairfield, NJ) abgepackt. Das Füllgewicht jeder Kapsel hing von dem Gewicht des einzelnen Tieres ab. Die Kapseldosen der Verbindung 1 betragen 100 mg/kg, 75 mg/kg und 50 mg/kg (als Mononatriumsalz). Die Kapseldosen von Insulin betragen 0,25 bis 0,5 mg pro kg.

#### Beispiel 2 – Insulin – Orale Verabreichung

##### A. Studien an Ratten

**[0052]** Zusammensetzungen zur oralen Dosierung (PO) der Verabreichungsmittelverbindung (hergestellt wie in Beispiel 1a oder 1b wie nachstehend angegeben) und von Zinkrekombinantem Humaninsulin (erhältlich von Calbiochem-Novabiochem Corp., La Jolla, CA (Katalog # 407694)) wurden in entionisiertem Wasser hergestellt. Typischerweise wurden 500 mg der Verabreichungsmittelverbindung zu 1,5 ml Wasser zugegeben. Die freie Säure der Verabreichungsmittelverbindung wurde durch Rühren der resultierenden Lösung und Zugeben von einem Äquivalent Natriumhydroxid in das Natriumsalz umgewandelt. Die Lösung wurde verwirbelt, anschließend erwärmt (ungefähr 37°C) und beschallt. Der pH wurde mit NaOH oder HCl auf ungefähr 7 bis 8,5 eingestellt. Zusätzliches NaOH wurde zugegeben, falls dies nötig war, um eine einheitliche Löslichkeit zu erzielen, und der pH wurde wieder eingestellt (zum Beispiel wurde für Verbindung 1a insgesamt 258,5 ml 10N NaOH zu 501 mg der Verbindung in 1,5 ml Wasser zugegeben, End-pH 7,73). Anschließend wurde Wasser zugegeben, um das Gesamtvolumen auf ungefähr 2,4 ml zu bringen, und es wurde verwirbelt. Ungefähr 1,25 mg Insulin aus einer Insulinstammlösung (15 mg/ml, hergestellt aus 0,5409 g Insulin und 18 ml entionisiertem Wasser, eingestellt mit HCl und NaOH auf pH 8,15 und zum Erhalten einer klaren Lösung unter Verwendung von 40 ml konzentriertem HCl, 25 ml 10N NaOH und 50 ml 1N NaOH) wurde zu der Lösung zugegeben und durch Umwenden vermischt. Die am Ende erhaltene Dosis der Verabreichungsmittelverbindung, Insulindosis und Dosisvolumenmengen sind nachstehend in Tabelle 1 aufgeführt.

**[0053]** Die Dosierungs- und Probenahmeverfahren waren wie folgt. Männliche Sprague-Dawley-Ratten, die ungefähr 200–250 g wogen, wurden 24 Stunden fasten gelassen und es wurde ihnen Ketamin (44 mg/kg) und Chlorpromazin (1,5 mg/kg) 15 Minuten vor der Dosierung und erneut je nach Bedarf zum Aufrechterhalten der Anästhesie verabreicht. Einer Dosierungsgruppe von fünf Tieren wurde eine der Dosierungslösungen verabreicht. Für eine orale Dosierung wurde ein 11 cm Rusch 8 French-Katheter an eine 1 ml-Spritze mit einer Pipettenspitze angeschlossen. Die Spritze wurde mit Dosierungslösung gefüllt, indem die Lösung durch den Katheter gezogen wurde, welcher anschließend trocken gewischt wurde. Der Katheter wurde in die Speiseröhre eingeführt, wobei 1 cm Schlauch nach den Schneidezähnen belassen wurde. Die Lösung wurde durch Drücken des Spritzenkolbens verabreicht.

**[0054]** Blutproben wurden der Reihe nach aus der Schwanzarterie gesammelt, typischerweise zum Zeitpunkt = 15, 30, 60, 120 und 180 Minuten nach der Verabreichung. Seruminsulinspiegel wurden mit einem Insulin-ELISA Testkit (Kit # DSL-10-1600 von Diagnostic Systems Laboratories, Inc., Webster, TX) bestimmt, wobei die Standardvorschrift abgewandelt wurde, um die Empfindlichkeit und den linearen Bereich der Eichkurve für die Volumina und Konzentrationen der in der vorliegenden Vorschrift verwendeten Proben zu optimieren. Serum-

humaninsulinkonzentrationen ( $\mu\text{E/ml}$ ) wurden für jeden Zeitpunkt für jedes der fünf Tiere in jeder Dosierungsgruppe gemessen. Die fünf Werte für jeden Zeitpunkt wurden gemittelt und die Ergebnisse als Seruminsulinkonzentration gegen die Zeit aufgetragen. Das Maximum (Peak) und die Fläche unter der Kurve (AUC) sind nachstehend in Tabelle 1 angegeben.

**[0055]** Frühere Experimente zeigten keine messbaren Spiegel von Humaninsulin im Anschluss an eine orale Dosierung mit Humaninsulin allein.

Tabelle 1. Insulin – Orale Verabreichung

Verbindung	Volumendosis (ml/kg)	Dosis der Verbindung (mg/kg)	Insulindosis (mg/kg)	Mittlerer Spitzenwert von Humaninsulin im Serum ( $\mu\text{E/ml} \pm \text{SE}$ )	AUC
1a	1,0	200	0,5	1457 $\pm$ 268	58935
1b	1,0	200	0,5	183 $\pm$ 89	8674
1b	1,0	200	0,5	136 $\pm$ 52	5533
1b	1,0	200	0,5	205 $\pm$ 61	7996
1b	1,0	200	0,5	139 $\pm$ 43	5271

#### B. Studien an Affen

**[0056]** Alle Tierversuchsvorschriften hielten sich an die "Prinzipien der Pflege von Labortieren" und waren vom Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) anerkannt.

**[0057]** Die Dosierungsvorschrift zur Verabreichung der Kapseln an jedes Tier war wie folgt. Grundlinienplasmaproben wurden von den Tieren vor der Dosierung erhalten. Gruppen von vier Cynomolgus-Affen, zwei männlichen und zwei weiblichen, die 2–3 kg wogen, wurden 4 Stunden vor der Dosierung und bis zu 2 Stunden nach der Dosierung fasten gelassen. Die Tiere wurden mit einer intramuskulären Injektion von 10 mg/kg Ketamin-hydrochlorid unmittelbar vor dem Dosieren anästhesiert. Jedem Tier wurden variierende Dosen von Verbindung 1 (25–100 mg/kg) in Kombination mit variierenden Dosen von Insulin 0,25–0,5 mg/kg Insulin als 1 Kapsel verabreicht. Wasser stand während des gesamten Dosierungszeitraums zur Verfügung und 400 ml Saft wurde dem Tier über Nacht vor dem Dosieren und während des Dosierungszeitraums zur Verfügung gestellt. Das Tier wurde in einer Schlingenfixierung fixiert. Eine Kapsel wurde in einen Tablettengeber gegeben, bei dem es sich ein Kunststoffwerkzeug mit einem Stempel und einer gespaltenen Gummispitze zur Aufnahme einer Kapsel handelt. Der Tablettengeber wurde in die Speiseröhre des Tieres eingeführt. Der Stempel des Tablettengebers wurde gedrückt, um die Kapsel aus der Gummispitze in die Speiseröhre zu schieben. Der Tablettengeber wurde dann zurückgezogen. Der Mund des Tieres wurde geschlossen gehalten und ungefähr 5 ml Umkehrosmosewasser wurden in den Mund von der Seite verabreicht, um einen Schluckreflex auszulösen. Die Kehle des Tieres wurde außerdem gerieben, um den Schluckreflex auszulösen.

**[0058]** Mit Citrat versetzte Blutproben (jeweils 1 ml) wurden durch Venenpunktur aus einer geeigneten Vene zu den Zeitpunkten 1 Stunde vor der Dosierung und 10, 20, 30, 40 und 50 Minuten und 1, 1,5, 2, 3, 4 und 6 Stunden nach der Dosierung gesammelt. Jede erhaltene Plasmaprobe wurde in zwei Portionen unterteilt. Eine Portion wurde bei  $-80^{\circ}\text{C}$  eingefroren und für einen Insulintest an einen anderen Ort transportiert. Die andere Portion wurde in dem Blutglucosetest verwendet. Vier Affen erhielten auch Insulin subkutan (0,02 mg/kg). Blutproben wurden wie vorstehend beschrieben gesammelt und analysiert.

**[0059]** Insulintests. Seruminsulinspiegel wurden unter Verwendung des Insulin-ELISA-Testkit (DSL, Webster, TX) gemessen.

**[0060]** Glucosetests. Blutglucosemessungen wurden unter Verwendung des ONETOUCH<sup>®</sup> Glucose Monitoring System von Live Scan Inc., Newtown, PA durchgeführt.

**[0061]** Die Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle 1A gezeigt.

Table 1A. Insulin – Orale Verabreichung an Affen

Verbindung	Dosis der Verbindung (mg/kg)	Insulindosis (mg/kg)	Mittlerer Spitzenwert von Humaninsulin im Serum ( $\mu\text{E/ml} \pm \text{SE}$ )	Mittlerer Spitzenwert der Blutglucoseverringerng ( $\mu\text{E/ml} \pm \text{SE}$ )
1d	100	0,5	91,4 $\pm$ 45	-52,3 $\pm$ 5,3
1d	50	0,5	124,1 $\pm$ 51,95	-61 $\pm$ 12,7
1d	25	0,5	87,14 $\pm$ 53,85	-28,75 $\pm$ 21,59
1d	25	0,25	36,35 $\pm$ 32,3	-19 $\pm$ 10,21

## Beispiel 3 – Cromolyn – Orale Verabreichung

**[0062]** Dosierungslösungen, die eine Verabreichungsmittelverbindung (hergestellt wie in Beispiel 1b) und Cromolyn-Dinatriumsalz (Cromolyn) (Sigma, Milwaukee, Wisconsin) enthielten, wurden in entionisiertem Wasser hergestellt. Die freie Säure der Verabreichungsmittelverbindung wurde mit einem Äquivalent Natriumhydroxid in das Natriumsalz umgewandelt. Dieses Gemisch wurde verwirbelt und in ein Beschallungsgerät gegeben (ungefähr 37°C). Der pH wurde mit wässrigem NaOH auf ungefähr 7–7,5 eingestellt. Zusätzliches NaOH wurde zugegeben, falls dies nötig war, um eine einheitliche Löslichkeit zu erzielen, und der pH wurde wieder eingestellt. Das Gemisch wurde verwirbelt, um eine einheitliche Lösung zu erzeugen, wobei auch eine Beschallung und Wärme eingesetzt wurde, falls dies nötig war. Die Lösung der Verabreichungsmittelverbindung wurde mit Cromolyn aus einer Stammlösung vermischt (175 mg Cromolyn/ml in entionisiertem Wasser, pH mit NaOH oder HCl auf ungefähr 7,0 eingestellt, falls dies erforderlich war, Stammlösung gefroren in Folie eingewickelt aufbewahrt, dann aufgetaut und vor der Verwendung auf ungefähr 30°C erwärmt). Das Gemisch wurde verwirbelt, um eine einheitliche Lösung zu erzeugen, wobei auch eine Beschallung und Wärme eingesetzt wurden, falls dies nötig war. Der pH wurde mit wässrigem NaOH auf ungefähr 7–7,5 eingestellt. Die Lösung wurde anschließend mit Wasser auf das gewünschte Volumen (üblicherweise 2,0 ml) und die gewünschte Konzentration verdünnt und in Folie eingewickelt vor der Verwendung aufbewahrt. Die endgültigen Dosen der Verabreichungsmittelverbindung und von Cromolyn und die Dosisvolumina sind nachstehend in Tabelle 2 aufgeführt.

**[0063]** Die typischen Dosierungs- und Probenahmeverfahren waren wie folgt. Männliche Sprague-Dawley-Ratten, die zwischen 200 und 250 g wogen, wurden 24 Stunden fasten gelassen und mit Ketamin (44 mg/kg) und Chlorpromazin (1,5 mg/kg) 15 Minuten vor der Dosierung und erneut je nach Bedarf zum Aufrechterhalten der Anästhesie anästhesiert. Einer Dosierungsgruppe von fünf Tieren wurde eine der Dosierungslösungen verabreicht. Ein 11 cm Rusch 8 French-Katheter wurde an eine 1 ml-Spritze mit einer Pipettenspitze angeschlossen. Die Spritze wurde mit der Dosierungslösung gefüllt, indem die Lösung durch den Katheter gezogen wurde, welcher anschließend trocken gewischt wurde. Der Katheter wurde in die Speiseröhre eingeführt, wobei 1 cm des Schlauches nach den Schneidezähnen belassen wurde. Die Lösung wurde durch Drücken des Spritzenkolbens verabreicht.

**[0064]** Blutproben wurden über die Schwanzarterie gesammelt, typischerweise 0,25, 0,5, 1,0 und 1,5 Stunden nach der Dosierung. Serumcromolynkonzentrationen wurden durch HPLC gemessen. Proben wurden wie folgt hergestellt: 100  $\mu\text{l}$  Serum wurde mit 100  $\mu\text{l}$  3N HCl und 300  $\mu\text{l}$  Ethylacetat in einem Eppendorfröhrchen vereinigt. Das Röhrchen wurde 10 Minuten verwirbelt und dann 10 Minuten bei 10000 U/min zentrifugiert. 200  $\mu\text{l}$  Ethylacetatschicht wurden in ein Eppendorfröhrchen, das 67  $\mu\text{l}$  0,1 M Phosphatpuffer enthielt, überführt. Das Röhrchen wurde 10 Minuten verwirbelt und anschließend 10 Minuten bei 10000 U/min zentrifugiert. Die Phosphatpufferschicht wurde dann in eine HPLC-Phiole überführt und in die HPLC injiziert (Säule = Keystone Exsil Amino 150  $\times$  2 mm Innendurchmesser, 5  $\mu\text{m}$ , 100 Å (Keystone Scientific Products, Inc.); mobile Phase = 35% Puffer (68 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , eingestellt auf pH 3,0 mit 85%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ )/65% Acetonitril; Injektionsvolumen = 10  $\mu\text{l}$ ; Fließgeschwindigkeit = 0,30 ml/Minute; Cromolyn-Retentionszeit = 5,5 Minuten; Extinktion detektiert bei 240 nm). Vorangegangene Studien zeigten Grundlinienwerte von ungefähr null.

**[0065]** Die Ergebnisse von den Tieren in jeder Gruppe wurden für jeden Zeitpunkt gemittelt und der höchste dieser Mittelwerte (d. h. der mittlere Spitzenwert der Serumcromolynkonzentration) ist nachstehend in Tabelle 2 angegeben.

Tabelle 2. Cromolyn – Orale Verabreichung

Verbindung	Volumendosis (ml/kg)	Dosis der Verbindung (mg/kg)	Cromolyndosis (mg/kg)	Mittlerer Spitzenwert von Serum-cromolyn $\pm$ SD(SE)
1b	1	200	25	0,70 $\pm$ 0,36 (0,16)

Beispiel 4: Rekombinantes menschliches Wachstumshormon (rhGH) – Orale Verabreichung

**[0066]** Dosierungslösungen für eine orale Verabreichung mittels Sonde (PO) der Verabreichungsmittelverbindung (hergestellt wie in Beispiel 1a oder 1b, wie in nachstehender Tabelle 3 angegeben) und von rhGH wurden in Phosphatpuffer hergestellt. Die freie Säure der Verabreichungsmittelverbindung wurde mit einem Äquivalent Natriumhydroxid in das Natriumsalz umgewandelt. Typischerweise wurde eine Lösung der Verbindung in Phosphatpuffer hergestellt und gerührt, wobei ein Äquivalent Natriumhydroxid (1,0 N) zugegeben wurde, wenn das Natriumsalz hergestellt wurde. Zusätzliches NaOH wurde zugegeben, falls dies nötig war, um eine einheitliche Löslichkeit zu erreichen, und der pH wurde wieder eingestellt. Die am Ende erhaltenen Dosierungslösungen wurden hergestellt durch Vermischen der Lösung der Verbindung mit einer rhGH-Stammlösung (15 mg rhGH/ml, hergestellt durch Vermischen in Pulverform von 15 mg rhGH, 75 mg D-Mannitol, 15 mg Glycin und 3,39 mg Dinatriumphosphat, und anschließend Verdünnen mit 2% Glycerin) und Verdünnen zu dem gewünschten Volumen (üblicherweise 3,0 ml). Die Dosen der Verbindung und von rhGH und die Dosisvolumina sind nachstehend in Tabelle 3 aufgeführt.

**[0067]** Die typischen Dosierungs- und Probenahmeverfahren waren wie folgt. Männliche Sprague-Dawley-Raten, die zwischen 200 und 250 g wogen, wurden 24 Stunden fasten gelassen und es wurde ihnen 15 Minuten vor der Dosierung und erneut nach Bedarf zum Aufrechterhalten der Anästhesie Ketamin (44 mg/kg) und Chlorpromazin (1,5 mg/kg) verabreicht. Einer Dosierungsgruppe von fünf Tieren wurde eine der Dosierungslösungen verabreicht. Ein 11 cm Rusch 8 French-Katheter wurde an eine 1 ml-Spritze mit einer Pipettenspitze angeschlossen. Die Spritze wurde mit der Dosierungslösung gefüllt, indem die Lösung durch den Katheter gezogen wurde, welcher anschließend trocken gewischt wurde. Der Katheter wurde in die Speiseröhre eingebracht, wobei 1 cm Schlauch nach den Schneidezähnen belassen wurde. Die Lösung wurde durch Drücken des Spritzenkolbens verabreicht.

**[0068]** Blutproben wurden der Reihe nach aus der Schwanzarterie gesammelt, typischerweise zum Zeitpunkt = 15, 30, 45 und 60 Minuten nach der Verabreichung. Serum-rhGH-Konzentrationen wurden durch einen rhGH-Immunoassaytestkit (Kit # K1F4015 von Genzyme Corporation Inc., Cambridge, MA) quantitativ bestimmt. Vorangegangene Studien zeigten Grundlinienwerte von ungefähr null.

**[0069]** Die Ergebnisse für die Tiere in jeder Gruppe wurden für jeden Zeitpunkt gemittelt. Der Maximalwert von diesen Mittelwerten (d. h. der mittlere Spitzenwert der Serum-rhGH-Konzentration) ist nachstehend in Tabelle 3 angegeben. (In den Fällen, in denen keine Standardabweichung (SD) oder Standardfehler (SE) nachstehend angegeben ist, wurden die fünf Proben von jedem Zeitraum vor dem Testen zusammengegeben).

Tabelle 3. rhGH – Orale Verabreichung

Verbindung	Volumendosis (ml/kg)	Dosis der Verbindung (mg/kg)	rhGH-Dosis (mg/kg)	Mittlerer Spitzenwert von Serum [rhGH] $\pm$ SD (SE) (ng/ml)
1a	1	200	3	99,35
1a	1	200	3	42,62
1b	1	200	3	84,01 $\pm$ 73,57 (32,90)
1b	1	200	3	50,44 $\pm$ 34,13 (15,26)

**[0070]** Dosierungslösungen der Verabreichungsmittelverbindung (hergestellt wie in Beispiel 1b) und von menschlichem Interferon (IFN) wurden in entionisiertem Wasser hergestellt. Die freie Säure der Verabreichungsmittelverbindung wurde mit einem Äquivalent Natriumhydroxid in das Natriumsalz umgewandelt. Typischerweise wurde eine Lösung der Verabreichungsmittelverbindung in Wasser hergestellt und gerührt, wobei ein Äquivalent Natriumhydroxid (1,0 N) zugegeben wurde, wenn das Natriumsalz hergestellt wurde. Dieses Gemisch wurde verwirbelt und in ein Beschallungsgerät gegeben (ungefähr 37°C). Der pH wurde mit wässrigem NaOH auf ungefähr 7,0 bis 8,5 eingestellt. Das Gemisch wurde verwirbelt, um eine einheitliche Suspension oder Lösung zu erzeugen, wobei auch Beschallung und Wärme eingesetzt wurden, falls dies nötig war. Zusätzliches NaOH wurde zugegeben, falls dies nötig war, um eine einheitliche Löslichkeit zu erzielen, und der pH wurde wieder eingestellt. Die Lösung der Verabreichungsmittelverbindung wurde mit einer IFN-Stammlösung (ungefähr 22,0 bis 27,5 mg/ml in phosphatgepufferter Kochsalzlösung) vermischt und auf das gewünschte Volumen (üblicherweise 3,0 ml) verdünnt. Die am Ende erhaltenen Dosen der Verabreichungsmittelverbindung und des IFN und die Dosisvolumina sind nachstehend in Tabelle 4 aufgeführt.

**[0071]** Die typischen Dosierungs- und Probenahmeverfahren waren wie folgt. Männliche Sprague-Dawley-Ratten, die zwischen 200 und 250 g wogen, wurden 24 Stunden fasten gelassen und es wurde ihnen Ketamin (44 mg/kg) und Chlorpromazin (1,5 mg/kg) 15 Minuten vor der Dosierung und erneut nach Bedarf zum Aufrechterhalten der Anästhesie verabreicht.

**[0072]** Einer Dosierungsgruppe von fünf Tieren wurde eine der Dosierungslösungen verabreicht.

**[0073]** Ein 11 cm Rusch 8 French-Katheter wurde an eine 1 ml-Spritze mit einer Pipettenspitze angeschlossen. Die Spritze wurde mit Dosierungslösung gefüllt, indem die Lösung durch den Katheter gezogen wurde, welcher anschließend trocken gewischt wurde. Der Katheter wurde in die Speiseröhre eingeführt, wobei 1 cm des Schlauchs nach den Schneidezähnen belassen wurde. Die Lösung wurde durch Drücken des Spritzenkolbens verabreicht.

**[0074]** Blutproben wurden der Reihe nach der Schwanzarterie entnommen, typischerweise zum Zeitpunkt = 0, 15, 30, 45, 60 und 90 Minuten nach der Verabreichung. Serum-IFN-Konzentrationen wurden unter Verwendung des Cytoscreen Immunoassay Kit für menschliches IFN-alpha (Katalog # KHC4012 von Biosource International, Camarillo, CA) quantitativ bestimmt. Vorangegangene Studien zeigten Grundlinienwerte von ungefähr null. Die Ergebnisse von den Tieren in jeder Gruppe wurden für jeden Zeitpunkt gemittelt. Das Maximum dieser Mittelwerte (d. h. der mittlere Spitzenwert der Serum-IFN-Konzentration) ist nachstehend in Tabelle 4 wiedergegeben.

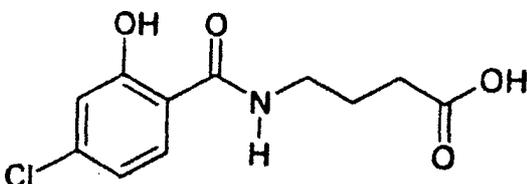
Tabelle 4. Interferon – Orale Verabreichung

Verbindung	Volumendosis (ml/kg)	Dosis der Verbindung (mg/kg)	IFN-Dosis (mg/kg)	Mittlerer Spitzenwert von Serum [IFN] (ng/ml) ± SD (SE)
1b	1,0	200	1,0	17,80 ± 13,52 (6,05)

**[0075]** Die vorstehend erwähnten Patente, Patentanmeldungen, Testverfahren und Veröffentlichungen sind hiermit durch Bezugnahme in Gänze in diese Anmeldung aufgenommen.

### Patentansprüche

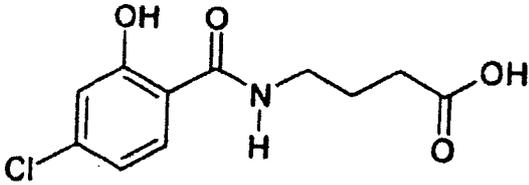
#### 1. Verbindung der Formel



oder ein Salz derselben.

2. Zusammensetzung, umfassend:

- (A) einen biologisch aktiven Wirkstoff; und  
(B) eine Verbindung der Formel



oder ein Salz oder eine Mischung derselben.

3. Die Zusammensetzung nach Anspruch 2, worin der biologisch aktive Wirkstoff wenigstens ein Protein, Polypeptid, Peptid, Hormon, Polysaccharid, Mucopolysaccharid, Kohlenhydrat oder Lipid umfasst.

4. Die Zusammensetzung nach Anspruch 2, worin der biologisch aktive Wirkstoff ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus:

Wachstumshormonen, menschlichen Wachstumshormonen, rekombinanten menschlichen Wachstumshormonen, Rinderwachstumshormonen, schweineartigen Wachstumshormonen, Wachstumshormon-freisetzenden Hormonen, Interferonen,  $\alpha$ -Interferon,  $\beta$ -Interferon,  $\gamma$ -Interferon, Interleukin-1, Interleukin-2, Insulin, schweineartigem Insulin, Rinderinsulin, menschlichem Insulin, menschlichen rekombinanten Insulin, insulinartigem Wachstumsfaktor, insulinartigem Wachstumsfaktor-1, Heparin, unfraktioniertem Heparin, Heparinoiden, Dermatanen, Chondroitinen, Heparin mit niedrigem Molekulargewicht, Heparin mit sehr niedrigem Molekulargewicht, Heparin mit ultraniedrigem Molekulargewicht, Calcitonin, Lachs-Calcitonin, Aal-Calcitonin, menschlichem Calcitonin; Erythropoietin (EPO), atrialem natriuretischem Faktor, Antigenen, monoklonalen Antikörpern, Somatostatin, Proteaseinhibitoren, Adrenocorticotropin, Gonadotropin-freisetzendem Hormon, Oxytocin, luteinisierendem Hormonfreisetzendem Hormon, Follikel-stimulierendem Hormon, Glucocerebrosidase, Thrombopoietin, Filgrastim, Prostaglandinen, Cyclosporin, Vasopressin, Cromolyn-Natrium, Natrium-Chromoglycinsäure, Dinatrium-Chromoglycinsäure, Vancomycin, Desferrioxamin, Parathyroidhormon, Fragmenten von Parathyroidhormon, antimikrobiellen Substanzen, Antimykotika, Vitaminen; Analoga, Fragmenten, Mimetika und Polyethylenglycol-modifizierten Derivaten dieser Verbindungen; und jeder Kombination derselben.

5. Die Zusammensetzung nach Anspruch 2, worin der biologisch aktive Wirkstoff Insulin, menschliches Wachstumshormon, Interferon, Cromolyn-Natrium oder Kombinationen derselben umfasst.

6. Die Zusammensetzung nach Anspruch 2, worin der biologisch aktive Wirkstoff Insulin umfasst.

7. Die Zusammensetzung nach Anspruch 2, worin der biologisch aktive Wirkstoff Interferon umfasst.

8. Dosierungseinheitsform, umfassend:

- (A) Die Zusammensetzung nach Anspruch 2; und  
(B) (a) einen Hilfsstoff,  
(b) ein Streckmittel,  
(c) ein Zerfallhilfsmittel,  
(d) ein Gleitmittel,  
(e) einen Weichmacher,  
(f) ein Farbmittel,  
(g) einen Dosierträger (dosing vehicle), oder  
(h) jegliche Kombination derselben.

9. Die Dosierungseinheitsform nach Anspruch 8, worin der biologisch aktive Wirkstoff wenigstens ein Protein, Polypeptid, Peptid, Hormon, Polysaccharid, Mucopolysaccharid, Kohlenhydrat oder Lipid umfasst.

10. Die Dosierungseinheitsform nach Anspruch 8, worin der biologisch aktive Wirkstoff ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus:

Wachstumshormonen, menschlichen Wachstumshormonen, rekombinanten menschlichen Wachstumshormonen, Rinderwachstumshormonen, schweineartigen Wachstumshormonen, Wachstumshormon-freisetzenden Hormonen, Interferonen,  $\alpha$ -Interferon,  $\beta$ -Interferon,  $\gamma$ -Interferon, Interleukin-1, Interleukin-2, Insulin, schweine-

artigem Insulin, Rinderinsulin, menschlichem Insulin, menschlichen rekombinantem Insulin, insulinartigem Wachstumsfaktor, insulinartigem Wachstumsfaktor-1, Heparin, unfraktioniertem Heparin, Heparinoiden, Dermatanen, Chondroitinen, Heparin mit niedrigem Molekulargewicht, Heparin mit sehr niedrigem Molekulargewicht, Heparin mit ultraniedrigem Molekulargewicht, Calcitonin, Lachs-Calcitonin, Aal-Calcitonin, menschlichem Calcitonin; Erythropoietin, atrialem natriuretischem Faktor, Antigenen, monoklonalen Antikörpern, Somatostatin, Proteaseinhibitoren, Adrenocorticotropin, Gonadotropin-freisetzendem Hormon, Oxytocin, luteinisierendem Hormonfreisetzendem Hormon, Follikel-stimulierendem Hormon, Glucocerebrosidase, Thrombopoietin, Filgrastim, Prostaglandinen, Cyclosporin, Vasopressin, Cromolyn-Natrium, Natrium-Chromoglycinsäure, Dinatrium-Chromoglycinsäure, Vancomycin, Desferrioxamin, Parathyroidhormon, Fragmenten von Parathyroidhormon, antimikrobiellen Substanzen, Antimykotika, Vitaminen; Analoga, Fragmenten, Mimetika und Polyethylenglycol-modifizierten Derivaten dieser Verbindungen; und jeder Kombination derselben.

11. Die Dosierungseinheitsform nach Anspruch 8, worin der biologisch aktive Wirkstoff Insulin, menschliches Wachstumshormon, Interferon, Cromolyn-Natrium oder Kombinationen derselben umfasst.

12. Die Dosierungseinheitsform nach Anspruch 8, worin der biologisch aktive Wirkstoff Insulin umfasst.

13. Die Dosierungseinheitsform nach Anspruch 8, worin der biologisch aktive Wirkstoff Interferon umfasst.

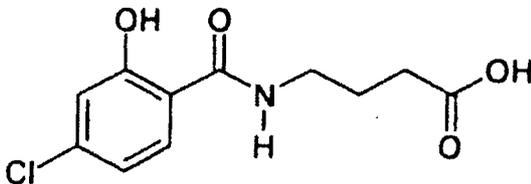
14. Die Dosierungseinheitsform nach Anspruch 8, worin die Dosierungseinheitsform in der Form einer Tablette, einer Kapsel, eines Partikels, eines Pulvers, einer Portionspackung (sachet) oder einer Flüssigkeit vorliegt.

15. Die Dosierungseinheitsform nach Anspruch 8, worin der Dosierräger eine Flüssigkeit ist, die aus der Gruppe, bestehend aus Wasser, 25%igem wässrigem Propylenglycol, Phosphatpuffer, 1,2-Propandiol, Ethanol und einer jeglichen Kombination derselben, ausgewählt ist.

16. Ein Verfahren zum Herstellen einer Zusammensetzung, umfassend das Mischen von:

- (A) wenigstens einem biologisch aktiven Wirkstoff;
- (B) der Verbindung des Anspruchs 1; und
- (C) optional einem Dosierräger.

17. Eine wasserfreie Verbindung der Formel



oder ein Salz derselben.

18. Wasserfreies Natrium-4-[(4-chlor-2-hydroxybenzoyl)amino]butanoat.

19. Die Verbindung nach Anspruch 1, wobei das Salz ein Mononatriumsalz ist.

20. Ein Kanalhydrat (channel hydrate) von Natrium-4-[(4-chlor-2-hydroxybenzoyl)amino]butanoat mit einem Wassergehalt von etwa 3% bis etwa 6 Gew.-%.

21. Isopropanolsolvat von Natrium-4-[(4-chlor-2-hydroxybenzoyl)amino]butanoat.

22. Zusammensetzung, umfassend:

- (a) einen biologisch aktiven Wirkstoff; und
- (b) die wasserfreie Verbindung des Anspruchs 18.

23. Zusammensetzung, umfassend:

- (a) einen biologisch aktiven Wirkstoff; und
- (b) das Kanalhydrat des Anspruchs 20.

24. Zusammensetzung, umfassend:  
(a) einen biologisch aktiven Wirkstoff; und  
(b) das Isopropanol solvat des Anspruchs 21.

25. Die Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 22 bis 24, worin der biologisch aktive Wirkstoff Insulin ist.

26. Die Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 22 bis 24, worin der biologisch aktive Wirkstoff ein menschliches Wachstumshormon ist.

27. Die Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 22 bis 24, worin der biologisch aktive Wirkstoff ein rekombinantes menschliches Wachstumshormon ist.

28. Die Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 22 bis 24, worin der biologisch aktive Wirkstoff Chromolyn-Natrium ist.

29. Die Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 22 bis 24, worin der biologisch aktive Wirkstoff Heparin ist.

30. Die Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 22 bis 24, worin der biologisch aktive Wirkstoff Calcitonin ist.

31. Die Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 22 bis 24, worin der biologisch aktive Wirkstoff Parathyroidhormon ist.

32. Feste Dosierungsform, umfassend:  
(A) die Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 22 bis 31; und  
(B) (a) einen Hilfsstoff,  
(b) ein Streckmittel,  
(c) ein Zerfallhilfsmittel,  
(d) ein Gleitmittel,  
(e) einen Weichmacher,  
(f) ein Farbmittel,  
(g) einen Dosierräger oder  
(h) jegliche Kombination derselben.

33. Die feste Dosierungsform des Anspruchs 32, worin die feste Dosierungseinheitsform eine Tablette oder Kapsel ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen