PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5 :		(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 93/01811
A61K 31/275, 9/127, 47/48	A1	(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 4. Februar 1993 (04.02.93)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP92/01577

(22) Internationales Anmeldedatum: 11. Juli 1992 (11.07.92)

(30) Prioritätsdaten:
P 41 24 252.1 22. Juli 1991 (22.07.91) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US):* KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Knollstrasse, D-6700 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US) :* ROSENBERG, Joerg [DE/DE]; Bruchstrasse 29, D-6701 Ellerstadt (DE). NEIDHARDT, Rolf [DE/DE]; Kurpfalzring 77, D-6830 Schwetzingen (DE). BLAICH, Guenter [DE/DE]; Schwalbenweg 4, D-6940 Weinheim (DE).

(74) Anwalt: KARAU, Wolfgang; BASF Aktiengesellschaft, Carl-Bosch-Strasse 38, D-6700 Ludwigshafen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IT, LU, MC, NL, SE).

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.

(54) Title: METHOD OF PREPARING A STERILE-FILTERABLE SOLUTION OF AN ACTIVE SUBSTANCE

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG EINER STERILFILTRIERBAREN WIRKSTOFFLÖSUNG

(57) Abstract

Described is a method of preparing a sterile-filterable aqueous solution of an active substance, the method comprising the following steps. Anipamil hydrochloride is mixed with a phospholipid in the ratio of 1:2 to 2:1 by wt., the solution thus obtained is gelled by the addition of water at elevated temperature, and the gel then reacted with water at elevated temperature until the active substance is at the desired concentration.

(57) Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren zur Herstellung einer sterilfiltrierbaren wäßrigen Wirkstofflösung beschrieben, welches darin besteht, daß man Anipamil-Hydrochlorid mit einem Phospholipid im Gewichtsverhältnis von 1:2 bis 2:1 mischt, die so erhaltene Mischung durch Zugabe von Wasser bei erhöhter Temperatur geliert und anschließend das Gel bei erhöhter Temperatur mit Wasser versetzt, bis der Wirkstoff in der gewünschten Konzentration vorliegt.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FI	Finnland	MN	Mongolei
AU	Australien	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BB	Barbados	GA	Gabon	MW	Malawi
BE	Belgien	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GN	Guinea	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	PL	Polen
BJ	Benin	HU	Ungarn	RO	Rumänien
BR	Brasilien	IE	Irland	RU	Russische Föderation
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU	Soviet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE*	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		
ES	Spanien	ML	Mali		

Verfahren zur Herstellung einer sterilfiltrierbaren Wirkstofflösung

Beschreibung

Für die parenterale Applikation von Wirkstoffen müssen diese in Form einer wäßrigen Lösung formuliert werden. Die Schwerlöslichkeit einer Reihe von Wirkstoffen bereitet dabei oft erhebliche Probleme. Oftmals ist dann nur mit Hilfe von Cosolventien (z.B. Ethanol) und/oder Löslichkeitsvermittlern eine entsprechende Applikationslösung erstellbar.

Ein Beispiel für einen derartigen schwer löslichen Wirkstoff ist das Anipamil-Hydrochlorid (EP 64 158). Die Löslichkeit in Wasser liegt unter 10 mg/Liter.

Mit Hilfe von synthetischen Löslichkeitsvermittlern gelingt es zwar im allgemeinen leicht, wäßrige Lösungen schwerlöslicher Wirkstoffe zu bereiten. Der Einsatz von Löslichkeitsvermittlern scheitert aber of wegen der dabei beobachteten Nebenwirkungen dieser Substanzen, insbesondere nach intravenöser Gabe.

Die natürlich vorkommenden Phospholipide dagegen werden bekanntermaßen auch nach parenteraler Gabe nahezu reaktionslos vertragen, unter anderem deshalb, da sie ohnehin Bestandteil einer jeden Zellmembran sind. Diese "natürlichen" Löslichkeitsvermittler eignen sich ebenfalls zur Herstellung von Injektions- und Infusionslösungen schwerlöslicher Wirkstoffe. Zur parenteralen Ernährung werden beispielsweise die dafür benötigten schwerlöslichen Fette mit Hilfe von Phospholipiden (Eierlecithin oder Sojalecithin) zu einer Emulsion formuliert, die in vergleichsweise großen Mengen ohne die bei synthetischen Löslichkeitsvermittlern beobachteten Nebenwirkungen verabreicht werden können. Derartige Emulsionen bestehen aus in Wasser fein verteilten Fetttröpfchen. An die Fetttröpfchen solcher Emulsionen können auch schwer lösliche Wirkstoffe gebunden werden, die dann in Form solcher kolloidaler Lösungen auch für parenterale Applikationen verwendbar sind.

Im Gegensatz zu Lösungen, die synthetische Löslichkeitsvermittler enthalten, sind solche mit Phospholipiden prinzipiell wesentlich schwieriger herzustellen. Phospholipide bilden beim Dispergieren in Wasser keine klaren micellaren Lösungen wie synthetische Löslichkeitsvermittler, sondern immer nur trübe, grobkolloidale Lösungen mit Partikelgrößen von mehreren µm. Derartige grobpartikuläre Präparate sind parenteral nicht applizierbar, da die Gefahr zu groß ist, daß Embolien entstehen. Deshalb muß bei der Verwendung von Phospholipiden als Löslichkeitsvermittler ein Homogenisierverfahren - z.B. eine Hochdruckhomogenisation - durchlaufen werden, um die Partikelgröße auf Werte unter 1 µm zu bringen. Der Einsatz von Phospholipiden als Löslichkeitsvermittler erfordert wegen des notwendigen Homogenisierschritts daher einen deutlich höheren Herstellaufwand.

Es wurde nun ein wesentlich einfacherer Weg zur Herstellung von Anipamil-haltigen Wirkstofflösungen gefunden.

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung einer sterilfiltrierbaren wäßrigen Anipamil-Lösung, dadurch gekennzeichnet, daß man das Anipamil-Hydrochlorid mit einem Phospholipid im Gewichtverhältnis von 1:2 bis 2:1 mischt, die so erhaltene Mischung durch Zugabe von Wasser bei erhöhter Temperatur unter Rühren geliert und anschließend das Gel bei erhöhter Temperatur mit Wasser versetzt, bis der Wirkstoff in der gewünschten Konzentration vorliegt.

Das Verfahren ist sowohl für das Anipamil-Racemat, als auch für die R- und S-Enantiomeren einsetzbar.

Als Phospholipide eignen sich u.a. Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylserin und Phosphatidylglycerin, entweder allein oder in Kombination miteinander. Bevorzugt sind Phosphatidylcholine, insbesondere solche, die ungesättigte Fettsäurereste enthalten, wie Ölsäure- und/oder Linolsäureester. Besonders bevorzugt sind hochgereinigte Ei- er- und Sojalecithine, die mindestens 80 % Phosphatidylcholin enthalten. Anipamil-Hydrochlorid und Phospholipid werden im Verhältnis von 1:2 bis 2:1 vorzugsweise 1:1,5 bis 1,5:1 und insbesondere von etwa 1:1 miteinander gemischt. Die Wirkstoff-Phospholipid-Mischung wird dann bei etwa 50 - 90°C, vorzugsweise etwa 70 - 80°C, schrittweise unter

Rühren mit Wasser versetzt. Die zugesetzte Wassermenge beträgt insgesamt etwa 20 ml pro g Wirkstoff-Phospholipid-Mischung, wovon jeweils 3 - 7 ml schrittweise im Abstand von 5 - 10 min zugegeben werden. Nach der Gelbildung muß mit weiterem Wasser bei erhöhter Temperatur auf die gewünschte Wirkstoffkonzentration verdünnt werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren verlangt a) eine schrittweise und in kleinen Portionen erfolgende Hydratisierung des Phospholipid-Anipamil-Gemisches und b) die Durchführung der Hydratisierung bei erhöhter Temperatur. Nur die Einhaltung dieser beiden Bedingungen, insbesondere von a), liefert zufriedenstellende Resultate, d.h. die Bildung von sterilfiltrierbaren Kolloidlösungen mit kleinen Partikelgrößen. Wird beispielsweise die Zugabe des Wassers nicht in dem oben angegebenen Schema durchgeführt (portioniert), sondern initial eine zu große Wassermenge zugegeben, entstehen grobkolloidale trübe Lösungen, die auch nach langem Rühren bei erhöhter Temperatur nicht mehr aufklaren. Die Partikelgrößen in diesen Lösungen liegen dann immer deutlich über 1 µm.

Den Phospholipid-Lösungen wird zweckmäßigerweise zur Isotonisierung eine hierfür geeignete physiologisch verträgliche Substanz zugesetzt. Geeignete Substanzen sind beispielsweise physiologisch verträgliche Salze (NaCl) oder nichtionische Verbindungen, wie Sorbit und insbesondere Mono- oder Disaccharide wie beispielsweise Saccharose. Die Saccharose wird bereits bei der Einwaage der Anipamil-Phospholipid-Mischung in fester Form zugegeben. Es zeigte sich, daß bei Anwesenheit von Saccharose die Gelbildung bei der Hydratisierung in einer Reihe von Fällen schneller erfolgte, so daß der Ansatz nicht so lange der erhöhten Temperatur ausgesetzt werden mußte.

Nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhält man kolloidale Lösungen, deren Partikelgrößen überraschenderweise so niedrig liegen, daß eine Sterilfiltration zur Entkeimung möglich ist (0,2- µm-Filter).

Dieses Ergebnis war insofern überraschend, als sich bei einem analogen Versuch ohne Anipamil-Hydrochlorid bei der Hydratisierung zwar ebenfalls ein klares Gel bildete, das aber beim weiteren Verdünnen immer nur grob kolloidale Lösungen

mit Partikelgrößen von mehreren µm ergab. Erst die Anwesenheit des Wirkstoffs ermöglicht die Bildung von kolloidalen Phospholipid-Lösungen mit Partikelgrößen, die sonst nur mit Hilfe von relativ aufwendigen Homogenisierverfahren erreichbar sind.

Die erhaltenen Lösungen sind sehr stabil. Auch nach Lagerung über mehrere Monate im Kühlschrank bleibt die Größenverteilung der Partikel unverändert. Eine Aggregation der Kolloidteilchen trat nicht auf. Die Lösungen können auch für Infusionszwecke verdünnt werden (beispielsweise mit isotoner Kochsalzlösung), ohne daß Ausflockungen auftreten. Auch diese verdünnten Lösungen sind lagerstabil. Die Lösungen zeichnen sich durch sehr gute Verträglichkeit aus, insbesondere bei intravenöser Gabe.

Beispiel 1
Anipamil-HCl-Lecithinlösung 11 mg/ml

1,10 g Anipamil-Hydrochlorid-Monohydrat (1,91 mMol) wurden mit 1,1 g Eierlecithin (Lecithin E100, Fa. Lipoid KG, Ludwigshafen) und 93,7 g Saccharose in ein thermostatisierbares Glagefäß eingewogen, das über einen Wasserbadthermostaten auf 75°C Innentemperatur erwärmt wurde. Unter ständigem Rühren erfolgte dann die Hydratisierung mit destilliertem Wasser gemäß folgendem Schema:

Zeitpunkt (min)	Zugabe Wasser (ml)
0	4
10	4
15	8
20	4

Nach der letzten Wasserzugabe wurde noch weitere 5 min bei 75°C gerührt. Die noch warme Lösung wurde schließlich in einen Meßkolben mit Wasser auf 100 ml verdünnt.

Die Partikelgrößen der Lösung lagen im Mittel bei 0,15 - 0,18 µm. Die gesamte Lösung wurde sterilfiltriert und im Kühlschrank bei 5°C gelagert.

Die so erhaltene Lösung ist bei dieser Temperatur mindestens 1 Jahr stabil. Vor Gebrauch wird sie mit physiologischer Kochsalzlösung auf die gewünschte Konzentration eingestellt. Sie kann dann unmittelbar infundiert werden.

Eine andere Möglichkeit zur Haltbarmachung besteht darin, daß man die noch nicht verdünnten Lösungen nach bekannten Verfahren lyophilisiert.

Beispiel 2
Vergleichsbeispiel

Die Präparation erfolgte wie in Beispiel 1, aber ohne Zugabe von Anipamil-HCl. Es wurde eine stark trübe Lösung erhalten, die sich bereits nach 30 min in 2 Phasen trennte. Die Partikelgrößen lagen über 1 µm, eine Sterilfiltration war nicht möglich.

Beispiel 3
Anipamil-HCl-Lecithinlösung 11 mg/ml

Der Versuch erfolgte wie in Beispiel 1, aber nur mit 0,7 g Eierlecithin (Lecithin E100). Die Partikelgrößen lagen wie im Beispiel 1 bei ca. 0,15 - 0,18 µm, eine Sterilfiltration war möglich.

Patentanspruch

Verfahren zur Herstellung einer sterilfiltrierbaren wäßrigen Wirkstofflösung, dadurch gekennzeichnet, daß man den Wirkstoff Anipamil-Hydrochlorid mit einem Phospholipid im Gewichtverhältnis von 1:2 bis 2:1 mischt, die so erhaltene Mischung durch Zugabe von Wasser bei erhöhter Temperatur gelliert und anschließend das Gel bei erhöhter Temperatur mit Wasser versetzt, bis der Wirkstoff in der gewünschten Konzentration vorliegt.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 92/01577

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC^5 A61K 31/275 A61K 9/127 A61K 47/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC^5 A 61 K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X Y	EP,A,0456106 (LEOPOLD PHARMA) 13 November 1991, see example 2; page 5, lines 7-22; claims 1,9	1
Y	GB,A,2046094 (A. NATTERMANN & CIE) 12 November 1980, see page 1, lines 91-92,113-116; claims	1
Y	STN File Server & File Medline, AN=86270668, M.J. CURTIS et al.: "Actions of the verapamil analogues, anipamil and ronipamil, against ischaemia-induced arrhytmias in conscious rats", & BR. J. PHARMACOL., 1986, 88(2), 355-61	1

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
12 October 1992 (12.10.92)	20 November 1992 (20.11.92)
Name and mailing address of the ISA/ EUROPEAN PATENT OFFICE Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO. EP 9201577 SA 61945

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 06/11/92
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A- 0456106	13-11-91	DE-A- 4015108	14-11-91
		JP-A- 4226911	17-08-92
GB-A- 2046094	12-11-80	DE-A- 2914788	16-10-80
		AT-B- 369651	25-01-83
		AU-B- 539044	06-09-84
		AU-A- 5733180	16-10-80
		BE-A- 882731	31-07-80
		CA-A- 1144480	12-04-83
		CH-A- 642546	30-04-84
		FR-A,B 2453644	07-11-80
		JP-B- 3037524	05-06-91
		JP-A- 55141407	05-11-80
		NL-A- 8002097	14-10-80
		SE-B- 451427	12-10-87
		SE-A- 8002714	12-10-80
		US-A- 4309421	05-01-82

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 92/01577

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)[6]

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

Int.Cl.5 A 61 K 31/275 A 61 K 9/127 A 61 K 47/48

II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff [7]

Klassifikationssytem	Klassifikationssymbole
Int.Cl.5	A 61 K

Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen [8]

III. EINSCHLAGIGE VEROFFENTLICHUNGEN [9]

Art.°	Kennzeichnung der Veröffentlichung [11], soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile [12]	Betr. Anspruch Nr.[13]
P,X Y	EP,A,0456106 (LEOPOLD PHARMA) 13. November 1991, siehe Beispiel 2; Seite 5, Zeilen 7-22; Ansprüche 1,9	1
Y	GB,A,2046094 (A. NATTERMANN & CIE) 12. November 1980, siehe Seite 1, Zeilen 91-92,113-116; Ansprüche	1
Y	STN File Server & File Medline, AN=86270668, M.J. CURTIS et al.: "Actions of the verapamil analogues, anipamil and ronipamil, against ischaemia-induced arrhythmias in conscious rats", & BR. J. PHARMACOL., 1986, 88(2), 355-61	1

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen [10] :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgefuhrt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veroffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder menreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

IV. BESCHEINIGUNG

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
12-10-1992	20. 11. 92
Internationale Recherchenbehörde	**Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten**
EUROPAISCHES PATENTAMT	Mme Dagmar FRANK

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Januar 1985)

ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.

EP 9201577
SA 61945

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 06/11/92
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP-A- 0456106	13-11-91	DE-A-	4015108	14-11-91
		JP-A-	4226911	17-08-92
GB-A- 2046094	12-11-80	DE-A-	2914788	16-10-80
		AT-B-	369651	25-01-83
		AU-B-	539044	06-09-84
		AU-A-	5733180	16-10-80
		BE-A-	882731	31-07-80
		CA-A-	1144480	12-04-83
		CH-A-	642546	30-04-84
		FR-A,B	2453644	07-11-80
		JP-B-	3037524	05-06-91
		JP-A-	55141407	05-11-80
		NL-A-	8002097	14-10-80
		SE-B-	451427	12-10-87
		SE-A-	8002714	12-10-80
		US-A-	4309421	05-01-82

EPO FORM P0473