(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
10. August 2006 (10.08.2006)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2006/082073 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
A61K 9/02 (2006.01) *A61K 36/481* (2006.01)
A61K 9/28 (2006.01) *A61K 36/482* (2006.01)
A61K 31/085 (2006.01) *A61K 36/708* (2006.01)
A61K 31/7034 (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2006/000957

(22) Internationales Anmeldedatum:
3. Februar 2006 (03.02.2006)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2005 005 268.1 4. Februar 2005 (04.02.2005) DE
10 2005 005 271.1 4. Februar 2005 (04.02.2005) DE

(71) Anmelder und
(72) Erfinder: **HEGER, Peter** [DE/DE]; Hofäckerstr. 14, 76698 Ubstadt-Weiher (DE). **RETTENBERGER, Reinhard** [DE/DE]; Wolfstr. 25, 73033 Göppingen (DE). **SPAICH, Carl-Friedrich** [DE/DE]; Auf den Feldäckern 4, 73092 Heiningen (DE).

(74) Anwalt: **REITSTÖTTER-KINZEBACH**; Reitstötter, Kinzebach & Partner (GbR), Sternwartstrasse 4, 81679 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:
— *mit internationalem Recherchenbericht*

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

WO 2006/082073 A1

(54) **Title:** DOSAGE FORMS OF ACTIVE INGREDIENTS CONTAINING HYDROXYSTILBENE FOR TREATING MENOPAUSAL COMPLAINTS

(54) **Bezeichnung:** DOSIERUNGSFORMEN HYDROXYSTILBEN-HALTIGER WIRKSTOFFE ZUR BEHANDLUNG KLIMAKTERISCHER BESCHWERDEN

(57) **Abstract:** The invention relates to novel dosage forms containing hydroxystilbene, to a method for producing said dosage forms and to their use for treating female menopausal complaints, juvenile oligomenorrhoea and dysmenorrhoea, primary and secondary amenorrhoea or endometritis.

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft neue Hydroxystilben-haltige Dosierungsformen, Verfahren zur Herstellung dieser Dosierungsformen und deren Verwendung zur Behandlung klimakterischer Beschwerden der Frau, juveniler Oligomenorrhoe und Dysmenorrhoe, primärer und sekundärer Amenorrhoe oder Endometritis.

DOSIERUNGSFORMEN HYDROXYSTILBEN-HALTIGER WIRKSTOFFE ZUR BEHANDLUNG KLIMAKTERISHCHER BESCHWERDEN

Die Erfindung betrifft neue Hydroxystilben-haltige Dosierungsformen, Verfahren zur Herstellung dieser Dosierungsformen und deren Verwendung zur Behandlung klimakterischer Beschwerden der Frau, juveniler Oligomenorrhoe und Dysmenorrhoe, primärer und sekundärer Amenorrhoe oder Endometritis.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

Die Menopause ist eine Störung der Ovarialfunktion, begleitet von hohen Spiegeln von follikelstimulierendem Hormon (FSH) und niedrigen Spiegeln von Östradiol (E2). Der Zeitpunkt bis zur letzten Menstruation wird auch als „Perimenopause" bezeichnet. Während dieser Phase bemerken die meisten Frauen zyklische Unregelmäßigkeiten, welche 1 bis 5 Jahre andauern. In den meisten westlichen Ländern leiden etwa 80 % der peri- und postmenopausalen Frauen an Hitzewallungen und bei etwa 30 % von ihnen treten die Hitzewallungen so heftig und häufig auf, dass dadurch die Lebensqualität merklich beeinträchtigt wird. Die exakte physiologische Ursache für Hitzewallungen ist nicht bekannt (Ginsburg, Obstetrics and Gynecology Clinics of North America 1994; 21 (2): 381-390). Hitzewallungen folgen auf eine Freisetzung von Gonadotropin-freisetzendem Hormon (GnRH) aus dem Hypothalamus und sind nicht mit Veränderungen im Östradiol- und Östron-Spiegel verbunden. Sie werden von einer Freisetzung von luteinisierendem Hormon (LH), Corticotropin, Wachstumshormon und ß-Lipotrophin aus der Hypophyse und von Dehydroepiandrosteron und Androstendion aus der Nebenniere begleitet. FSH-Spiegel können zwischen normal und hoch (>20 IU/l) schwanken.

Die Hormonersatztherapie (HRT) ersetzt die beiden weiblichen Sexualsteroide Östrogen und Progesteron. Für viele Jahre wurde die HRT zur Behandlung von klimakterischen Beschwerden sowie zur Prävention von Herz-Kreislauferkrankungen und Osteoporose in der Peri- und Postmenopause eingesetzt. Sie wurde als wirksam und sicher betrachtet. Dies gilt aber nicht mehr, seit große randomisierte kontrollierte Studien durchgeführt wurden, die das Gegenteil zeigten (Beral et al., Lancet 2002; 360: 942-944, Collaborative Group, Lancet 1997; 359: 1047-1059). HRT hat keine positive Wirkung auf die Inzidenz und Progression von koronaren Herzerkrankungen. Es gibt sogar Hinweise, dass sie das Risiko für Herz-Kreislauferkrankungen von peri- und postme-

nopausalen Frauen erhöht. In einer randomisierten, placebo-kontrollierten Doppelblindstudie zur Primärprävention mit Östrogen plus Progestin, durchgeführt von der Women's Health Initative (WHI) wurden nach einer HRT 100 % mehr Thrombosen, 41% mehr Schlaganfälle und 29% mehr Myokardinfarkte im Vergleich zu Placebo festgestellt (Writing Group for WHI Investigators JAMA 2002; 288: 321-333, Chlebowsky et al. JAMA 2003; 289: 3243-3253). Darüber hinaus wurde anhand von randomisierten kontrollierten Studien festgestellt, dass die HRT mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten von Brustkrebs verknüpft ist (Million Women Study Collaborators Lancet 2003; 362: 419-427, Schairer et al. JAMA 2000; 283: 485-491, Ross et al J Natl Cancer Inst 2000; 92: 328-332, Colditz et al. N Engl J Med 1995; 332: 1589-1593, Magnusson et al. Int J Cancer 1999; 81: 339-344).

Der Östrogen-Rezeptor (ER) vermittelt die Aktivität der Östrogene bei der Regulation einer Anzahl wichtiger physiologischer Prozesse, einschließlich der Entwicklung und Funktion des weiblichen reproduktiven Systems. Während die Stimulation von Prozessen in diesen Geweben wichtige gesundheitliche Vorteile besitzt, kann die Stimulation anderer Gewebe, wie der Brust und dem Uterus, insbesondere in der Peri- und Postmenopause das Krebsrisiko erhöhen. Die ER-Familie umfasst zwei Subtypen, nämlich ERα und ERß. Studien mit ER-selektiven Knock-out-Mäusen haben gezeigt, dass die typischen unerwünschten Östrogen-Wirkungen, wie Endometriumhyperplasie und Brustkrebs, durch ERα vermittelt werden, während ERß als negativer Regulator von ERα wirkt und für den Schutz gegen Hyperproliferation und Karzinogenese in Geweben, in denen beide Rezeptoren koexprimiert werden, von Bedeutung ist (Hewitt et al. Brest Cancer Res 2003; 2: 345-352, Frasor et al Endocrinology 2003; 144: 3159-3166, Lindberg et al Mol Endocrinol 2003; 17: 203-208).

Aufgrund der Ergebnisse klinischer und experimenteller Studien weigern sich immer mehr Frauen, die HRT für ihre klimakterischen Beschwerden anzuwenden. Darüber hinaus ist die HRT nicht indiziert für die Behandlung von Frauen, welche bereits einen endokrin-abhängigen Tumor hatten, oder ein hohes Krebsrisiko, insbesondere Brustkrebs und Endometriumkrebs, aufweisen. Deshalb sind neue Wirkstoffe zur Behandlung von klimakterischen Beschwerden, welche insbesondere auch in der Langzeitanwendung frei sind von den mit einer HRT verbundenen potenziellen Risiken, sehr wünschenswert.

Es gibt mehrere sogenannte Phytoöstrogene, welche eine Wirksamkeit bezüglich der Reduktion von Hitzewallungen und Schweißausbrüchen für sich beanspruchen. Für die meisten dieser Pflanzenpräparate sind die Ergebnisse klinischer Studien, sofern überhaupt vorhanden, widersprüchlich oder zeigen keine Wirksamkeit im Vergleich zu Placebo. Darüber hinaus können einige Inhaltsstoffe dieser Präparate eine östrogene Aktivität trotz ihrer relativ schwachen Bindungsaffinität für ERα aufweisen (z.B. Genistein, Coumestrol, Equol und Zearalenon; Müller et al Toxicol. Sci. 2004; 80: 14-25) und somit ein Risiko ähnlich der HRT darstellen. In der Tat wurde beobachtet, dass eine Langzeitbehandlung mit Soja-Phytoöstrogenen zu einer Endometrium-Hyperplasie führte (Unfer et al., Fertil Steril 2004; 82: 145-148). Diese Beobachtungen stellen die Langzeitsicherheit von Phytoöstrogenen insbesondere in Bezug auf das Endometrium in Frage.

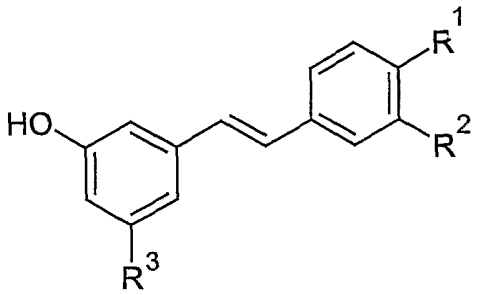
Es besteht somit ein starker Bedarf an neuen Wirkstoffen oder Wirkstoffkombinationen zur Behandlung von klimakterischen Beschwerden, die nicht an den ERα binden, d.h. nicht pro-karzinogen sind, und die Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen nicht fördern.

Seit 1993 ist in Deutschland unter der Bezeichnung Extrakt Rheum rhaponticum (ERr 731®) (Handelsname Phytoestrol® N) ein Trockenextrakt aus Wurzeln von Rheum rhaponticum zur Follikelhormonersatztherapie, beispielsweise zur Behandlung von Frauen mit klimakterischen Beschwerden, juveniler Oligomenorrhoe und Dysmenorrhoe, primärer und sekundärer Amenorrhoe sowie Endometritis auf dem Markt. Die Inhaltsstoffe des spezifischen ERr 731®-Extrakts sind Rhaponticin, Desoxyrhaponticin, Rhapontigenin und Desoxyrhapontigenin (Tabelle 1).

Tabelle 1

Zusammensetzung des Extrakts ERr 731®		
Hydroxystilben	**Chemischer Name**	**CAS Nr.**
Rhaponticin	3,3',5-Trihydroxy-4'-methoxystilben-3-O-ß-D-glucopyranosid	155-58-8
Desoxyrhaponticin	3',5-Dihydroxy-4'-methoxystilben-3-O-ß-D-glucopyranosid	30197-14-9
Rhapontigenin (trans-Rhapontigenin)	3,3',5-Trihydroxy-4'-methoxystilben	500-65-2
Desoxyrhapontigenin	3',5-Dihydroxy-4'-methoxystilben	33626-08-3

Sämtliche Inhaltsstoffe von ERr 731® gehören zur Gruppe der Hydroxystilbene. Mehrere Studien haben gezeigt, dass Zahl und Position der freien Hydroxy- und Methoxygruppen die biologische Aktivität der Hydroxystilbene stark beeinflusst. Der pharmakologische Effekt der Hydroxystilbene ist darüber hinaus abhängig von der Präsenz einer Glukosegruppe.



	R^1	R^2	R^3
Resveratrol	OH	H	OH
Rhaponticin	OCH_3	OH	O-Glc
Desoxyrhaponticin	OCH_3	H	O-Glc
Rhapontigenin	OCH_3	OH	OH
Desoxyrhapontigenin	OCH_3	H	OH
Astringin	OH	OH	O-Glc
Piceatannol (Astringenin)	OH	OH	OH

Ob, bzw. zu welchen Metaboliten die Inhaltsstoffe von ERr 731®, z.B. nach oraler Verabreichung im Körper abgebaut werden, ist nur unzureichend untersucht. So ist lediglich aus Untersuchungen zur antithrombotischen und antiallergischen Aktivität von Rhaponticin-haltigen Extrakten aus Rhei Rhizoma bekannt, dass Rhaponticin durch Bakterien des menschlichen Intestinaltrakts zu Rhapontigenin abgebaut wird (Park et al, Arch. Pharm. Res. 2002, 25 (4), 528-533). Eine Metabolisierung von Rhaponticin zu Piceatannol oder von Desoxyrhaponticin zu Resveratrol wurde bisher nicht beschrieben.

Das im Handel befindliche Präparat ERr 731® (Handelsname Phytoestrol® N) weist in Bezug auf Dosierungsform und Herstellung gewisse Nachteile auf. Insbesondere ist der absolute Wirkstoffgehalt im Handelsprodukt relativ gering, so dass die Dosierungs-

form für eine Wirkstoffdosis von beispielsweise 4 mg relativ groß ist (400 mg-Tablette), was bei oraler Applikation zuweilen als nachteilig empfunden wird.

Die Größe der Dosierungsform wirkt sich zudem nachteilig auf die Herstellungskosten aus, da relativ zur Wirkstoffmenge ein überproportional hoher Anteil an Formulierungshilfsstoffen enthalten ist, was wiederum die Herstellungskosten unnötig erhöht. Eine Verkleinerung der festen Dosierungsform ist nicht ohne weiteres erreichbar, da bei Verringerung der Größe der Dosierungsform der Grenzwert für die noch zulässige Schwankung im Wirkstoffgehalt immer schwieriger einzuhalten ist. Dies gilt insbesondere bei Wirkstoffen des vorliegenden Typs, die zu einem starken Entmischen währen der Herstellung der festen Dosierungsform, insbesondere des wirkstoffhaltigen Tablettenkerns, neigen.

Da bei den für obige Indikation eingesetzten festen Dosierungsformen eine Wirkstofffreisetzung in Darm teilweise erwünscht ist, werden herkömmliche Formulierungen mit einer magenresistenten Beschichtung versehen. Derartige Beschichtungen weisen, zur Vermeidung unerwünschter Rissbildungen gewöhnlich einen Weichmacher auf, welcher häufig zu Unverträglichkeiten wie z.B. Allergien führt, insbesondere bei längerer Einnahme des Medikaments. Andererseits besteht bei Auftreten von Rissen die Gefahr der Auslösung von Magenschmerzen. Rissbeständige, aber weichmacherfreie, magensaftresistente feste Formulierungen wären daher ebenfalls wünschenswert.

Nachteile der derzeit auf dem Markt befindlichen festen oralen Dosierungsformen sind zuweilen auch darin zu sehen, dass die Inhaltsstoffe nicht sofort wirken können, da die Freisetzung erst mit einer gewissen zeitlichen Verzögerung erfolgt und somit eine Behandlung akuter Beschwerden, wie plötzlich auftretender Migräne oder Hitzewallungen, nicht optimal ist. Darüber hinaus sind herkömmliche feste Dosierungsformen nur systemisch und nicht lokal verabreichbar, was bei lokal begrenzten gesundheitlichen Störungen, wie z.B. dem Auftreten von Vaginalproblemen und sonst keinen anderen klimakterischen Beschwerden, von Nachteil ist. Darüber hinaus sind feste Dosierungsformen, insbesondere magensaftresistente Tabletten nur begrenzt individuell dosierbar, weil nicht teilbar, was ebenfalls von Nachteil sein kann. Alternative, bedarfsgerechter einsetzbare Dosierungsformen obiger Wirkstoffe wären daher wünschenswert.

Gegen die Bereitstellung von Dosierungsformen, welche nicht für eine orale Verabreichung ausgelegt sind, wie z.B. lokal zu applizierende Gele, spricht auch, dass bisher angenommen wurde, dass die Resveratrol- und Piceatannol-Vorläufer, wie Rhaponticin und Desoxyrhaponticin, per se pharmakologisch inaktiv sind und erst durch Metabolisierung nach oraler Gabe zu Resveratrol und Piceatannol Wirkung zeigen.

Die FR 2 835 185 beschreibt einen komplexen Rhabarberextrakt, erhältlich aus Wurzelstöcken von Rheum rhaponticum, der dadurch gekennzeichnet sein soll, dass er mindestens 50 % Hydroxystilbene enthält, wobei diese Hydroxystilbene zu mindestens 50 % aus Rhaponticin, Desoxyrhaponticin, Astrangin und Piceatannol bestehen. Ein bevorzugter Extrakt enthält 15 – 50 Gew.-% Rhaponticin, 10 – 35 Gew.-% Desoxyrhaponticin, 5 – 10 Gew.-% Astrangin und 0,1 – 3 Gew.-% Piceatannol. Dieser Extrakt wird, wie in den Beispielen veranschaulicht, durch wässrig-alkoholische Extraktion von Wurzelstöcken von Rheum rhaponticum hergestellt. Der damit erzielbare Gesamtanteil an Rhaponticin und Desoxyrhaponticin beträgt dabei nur 76 Gew.-%. Astrangin ist in einem Anteil von 11 Gew.-%, Piceatannol in einem Anteil von 3 Gew.-% und Anthracenoside sind in einem Anteil von 0,5 Gew.-% enthalten. Darüber hinaus scheint dieser Extrakt ca. 10 Gew.-% weitere, nicht näher beschriebene Bestandteile zu enthalten. In der FR 2 835 185 wird außerdem behauptet, dass der dortige spezielle Extrakt infolge angeblicher Synergieeffekte der verschiedenen Inhaltsstoffe des Extraktes biologische Eigenschaften besitzt, die der Wirkung der einzelnen Hydroxystilbene erheblich überlegen sind, insbesondere denjenigen Wirkungen, die die dort beschriebenen Inhaltsstoffe einzeln aufweisen sollen. Der dort beschriebene Extrakt soll angeblich antioxidative, tumorhemmende, entzündungshemmende und östrogene Eigenschaften besitzen. Tatsächlich liefert aber die FR 2 835 185 keine nachprüfbare technische Lehre für die behauptete pharmakologische Anwendbarkeit, geschweige denn, für den behaupteten Synergieeffekt des dort beschriebenen komplexen Drogenextraktes. Der experimentelle Teil beschreibt lediglich einzelne Formulierungsbeispiele für Kapseln, Tabletten oder Cremes. Insbesondere fehlen jegliche Versuchsdaten, welche die angebliche Brauchbarkeit zur Behandlung von solchen Erkrankungen belegen, welche im Zusammenhang mit freien Radikalen stehen, wie zum Beispiel beschleunigte Alterung, Krebs, Arteriosklerose, Falten, entzündliche Phänomene und dergleichen. Auch die behauptete Eignung einer Kombination des dort beschriebenen Rhabarberextrakts mit einem an Prenylflavonoiden reichen Hopfenextrakt zur Behandlung von mit freien Radikalen stehenden Krankheiten und/oder zur Behandlung von hormonellem Un-

gleichgewicht, wie Amenorrhoe, Menopause, Hitzewallungen usw. ist durch keine Daten belegt. Es bleibt darüber hinaus völlig unklar, welche der tatsächlich in dem dort beschriebenen Extrakt enthaltenen Komponenten (Rhaponticin, Desoxyrhaponticin, Astrangin, Piceatannol, Anthracenoside sowie die in einem Anteil von 10 % enthaltenen nicht analysierten Bestandteile) zu der behaupteten pharmakologischen Aktivität beitragen oder gegebenenfalls sogar für die behauptete Synergie zwingend erforderlich sind. Die tatsächliche Offenbarung der FR 2 835 185 sollte daher auf die Herstellung eines spezifischen, komplexen Rhabarberextraktes durch wässrig-alkoholische Extraktion von Wurzelstöcken von Rheum rhaponticum und die Herstellung spezifischer Hydroxystilben-Derivate sowie die Herstellung diverser pharmazeutischer Formulierungen beschränkt sein. Darüber hinaus bestehen Zweifel, ob der komplexe Extrakt gemäß FR 2 835 185 überhaupt in zufriedenstellender Weise zu Tabletten verarbeitbar ist, die den Qualitätsstandards der pharmazeutischen Industrie genügen.

Es besteht daher ein Bedarf an verbesserten Dosierungsformen für den Extrakt ERr 731 und anderen Mitteln mit ähnlichen Wirkstoffen zur effizienteren Behandlung unterschiedlicher klimakterischer Erkrankungen, welche einen oder mehrere der oben beschriebenen Nachteile nicht mehr aufweisen.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

Überraschenderweise wurde diese Aufgabe durch Bereitstellung von einfacher herzustellenden, festen Dosierungsformen von ERr 731® und vergleichbaren Wirkstoffen und Wirkstoffkombinationen gelöst, welche zudem einen höheren Wirkstoffgehalt aufweisen können. Obige Aufgabe wurde auch gelöst durch erstmalige Bereitstellung von halbfesten und flüssigen Dosierungsformen der oben beschriebenen Wirkstoffe und Kombinationen davon.

Überraschenderweise wurde nämlich folgendes festgestellt:

a) Kleinere feste Dosierungsformen mit höherem relativen Wirkstoffgehalt sind herstellbar, die eine überraschend geringe prozentuale Schwankung im Wirkstoffgehalt zeigen.

b) Kleinere feste Dosierungsformen mit höherem relativen Wirkstoffgehalt und magensaftresistenter Beschichtung sind zudem rissbeständiger als herkömmliche Tabletten und können ohne Weichmacher in der Beschichtung formuliert werden, wodurch weniger Nebenwirkungen, wie Magenprobleme und Allergien, aufgrund fehlender Weichmacher, auftreten.

c) Aufgrund der überraschend festgestellten Wirksamkeit von Resveratrol- und Piceatannol-Vorläufern, wie Rhaponticin und Desoxyrhaponticin per se besteht die Möglichkeit der Bereitstellung von flüssigen oder halbfesten Formulierungen, welche diese Wirkstoffe umfassen und lokal applizierbar sind, besser und genauer individuell dosierbar sind, den Wirkstoff schneller bioverfügbar machen und weniger Nebenwirkungen, wie Magenprobleme und Allergien, aufgrund fehlender Zusätze, wie Weichmacher, zeigen. Darüber hinaus sind solche flüssigen oder halbfesten Formulierungen besonders einfach herzustellen.

FIGURENBESCHREIBUNG

Figur 1 zeigt die Bildung von Piceatannol und Resveratrol in vivo in männlichen und weiblichen Hunden 24 Stunden nach Verabreichung von 100 mg ERr 731/kg Körpergewicht.

Figur 2 zeigt die östrogene Aktivität von 17β-Östradiol im Vergleich zu Resveratrol, cis- und trans-Rhapontigenin, Desoxyrhapontigenin, Piceatannol und ERr 731 in einem rekombinanten Hefe-Screen, stabil exprimierend ER-α. Die Konzentrationen (X-Achse) sind molare Konzentrationen mit Ausnahme der ERr 731® -Konzentration, die in µg/ml angegeben ist.

Figur 3 zeigt die östrogene Aktivität von 17β-Östradiol im Vergleich zu Resveratrol, cis- und trans-Rhapontigenin, Desoxyrhapontigenin, Piceatannol und ERr 731®, angegeben als Aktivität von alkalischer Phosphatase in Ishikawa-Zellen, transient mit ER-α. Die Konzentrationen (X-Achse) sind molare Konzentrationen mit Ausnahme der ERr 731® -Konzentration, die in µg/ml angegeben ist.

Figur 4 zeigt das Ergebnis einer pharmakokinetischen Untersuchung des Inhaltsstoffs Rhaponticin von ERr 731® im Blut einer Probandin nach oraler ERr 731® Gabe. Rha-

ponticin konnte im Blut nachgewiesen werden, nicht jedoch Rhapontigenin. Ebenso war dessen Metabolit Piceatannol unter den Versuchsbedingungen im Blut nicht nachweisbar.

Figur 5 zeigt das Ergebnis von Versuchen zur Aktivierung des Östrogenrezeptors-ß (ERβ) durch die Wirkstoffkombination ERr 731® in der humanen Endometriumkarzinomzelllinie HEC-1B (Figur 5a); die Aglycone trans-Rhapontigenin (Figur 5b) und Desoxyrhapontigenin (Figur 5c) sind erst bei höheren Konzentrationen wirksam (E2 = Östradiol; RLU = relative Luciferase Units); * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

1. Bevorzugte Gegenstände der Erfindung

Gegenstand der Erfindung ist eine feste Dosierungsform, umfassend einen wirkstoffhaltigen festen Kern mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger und einem Wirkstoffgehalt von etwa 1 bis 20 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des Kerns, wobei der Wirkstoff einen Hydroxystilben-haltigen Wirkstoff oder eine Hydroxystilben-haltige Wirkstoffkombination umfasst, ausgewählt unter Resveratrol- und Piceatannol-Prodrugs (Vorläufer), wie insbesondere Rhaponticin, Desoxyrhaponticin, cis- und trans-Rhapontigenin, Desoxyrhapontigenin und Astringin; sowie Resveratrol und Piceatannol; sowie deren stereoisomeren Formen, jeweils in Form ihrer Salze oder in der Phenolform und funktionellen Derivaten, oder Kombinationen dieser Verbindungen.

Resveratrol- und Piceatannol-„Prodrugs" im Sinne der Erfindung sind insbesondere Substanzen, welche in vivo, wie z.B. im Menschen und/oder einem anderen Säuger, wie z.B. Hund, in Resveratrol und/oder Piceatannol teilweise oder ganz überführbar sind. Hierbei kann es sich um zuckerhaltige (Gycoside) oder zuckerfreie (Aglycone) natürliche oder synthetische Vorläufer von Resveratrol oder Piceatannol handeln. Typische Beispiele für zuckerhaltige Vorläufer umfassen Rhaponticin, Astringin und Desoxyrhaponticin. Typische Beispiele für zuckerfreie Vorläufer umfassen Rhapontigenin und Desoxyrhapontigenin. Die Begriffe „Prodrug" oder „Vorläufer" sind aber im Kontext der Erfindung nicht als funktionelle Einschränkung zu verstehen. Wie durch die später beschriebenen Versuchsergebnisse belegt, entfalten insbesondere die erfindungsgemäßen „Vorläufer" per se vorteilhafte pharmakologische Wirkungen.

Vorzugsweise liegen die Wirkstoffe im Wesentlichen in der trans-Form vor. Salze sind insbesondere die Alkali- und Erdalkaliphenolate obiger Verbindungen, die eine oder mehrere freie phenolische Hydroxylgruppen aufweisen. Liegen mehrere Hydroxylgruppen vor, so können diese teilweise oder vollständig in der Salzform vorliegen.

Der erfindungsgemäß einzusetzende Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination ist dabei chemisch synthetisiert oder insbesondere ein aus natürlichen oder rekombinanten Pflanzen isolierbarer Inhaltsstoff oder eine daraus isolierbare Inhaltsstoffkombination welche wenigstens eine der oben genannten Hydroxystilben-Verbindungen enthält. Die anfallenden Pflanzenextrakte oder einzelne Komponenten davon können auch Derivatisierungsreaktionen unterzogen werden, um sogenannte funktionelle Derivate zu erhalten. Dabei handelt es sich insbesondere um solche Derivate, die im menschlichen oder tierischen Körper nach Verabreichung wieder in die nichtderivatisierte Ausgangsverbindung zurückführbar sind. Insbesondere sind zu nennen Ether und Esterderivate der erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen. Dabei können einzelne oder alle veretherbaren oder veresterbaren Gruppen eines Moleküls (insbesondere die phenolischen und glucosidischen Hydroxygruppen) derivatisiert sein. Beispiele geeigneter Derivate und deren Herstellung sind z.B. in der FR 2 835 185 beschrieben, worauf hiermit ausdrücklich Bezug genommen wird. So können genannt werden: Ester von gesättigten oder ungesättigten, aliphatischen oder aromatischen Carbonsäuren mit bis zu 25 Kohlenstoffatomen, wie 1 bis 25 Kohlenstoffatomen, wie z.B. gesättigte C_6 - C_{22}-Fettsäuren (wie z.B. gesättigte unverzweigte Fettsäuren ausgewählt unter Capronsäure, Önanthsäure, Caprylsäure, Pelargonsäure, Caprinsäure, Undecansäure, Laurinsäure, Tridecansäure, Myristinsäure, Pentadecansäure, Palmitinsäure, Margarinsäure, Stearinsäure, Nonadecansäure, Arachinsäure, Behensäure); oder Silylether, wobei das Siliziumatom drei gleiche oder verschiedene, geradkettige oder verzweigte, gesättigte oder ungesättigte Kohlenwasserstoffreste mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen, wie z.B. C_1 - C_{20}-Alkyl oder C_2 - C_{20}-Alkenyl, trägt.

Bevorzugt wird eine Wirkstoffkombination aus wenigsten zwei der oben genannten Verbindungen eingesetzt, wie z.B. 2, 3, 4, 5, 6, 7 oder 8 Einzelverbindungen, wobei die Gruppe der Resveratrol-Vorläufer (insbesondere Desoxyrhaponticin und Desoxyrhapontigenin) und der Piceatannol-Vorläufern (insbesondere Rhaponticin und Rhapontigenin) durch jeweils eine Verbindung vertreten ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination aus Pflanzen zugänglich, die ausgewählt sind unter natürlichen Pflanzen sowie durch Züchtung veränderten oder rekombinanten, genetisch veränderten, Pflanzen, die einen in Vergleich zur entsprechenden unveränderten Pflanze höheren Gehalt an wenigstens einem der gewünschten Inhaltsstoffe aufweisen. Insbesondere sind diese Pflanzen ausgewählt unter Pflanze der Gattung Rheum spp., Astragalus spp., Cassia spp. oder Picea spp. oder wirkstoffhaltigen Pflanzenteilen. Nichtlimitierende Beispiele für geeignete Arten dieser Gattungen sind Rheum undulatum, Rheum palmatum, Rheum tataricum, Rheum officinale, Rheum wittrockii, Rheum altaicum, Rheum reticulatum, Astragalus complanatus Cassia garrettiana und Picea sitchensis.

Dem Fachmann ist außerdem bewusst, dass Gattungen/Arten unterschiedlicher Provinienz sowie verschiedenen Alters (d.h. Ernte zu verschiedenen Zeiten der Vegetationsperiode) einsetzbar sind, was wiederum Einfluss auf Art, Menge und Zusammensetzung des daraus isolierbaren Wirkstoffe und Gemische haben kann. Ebenso sind verschiedene Pflanzenteile, wie Wurzeln, Rhizome, Blätter und/oder Stängel, grundsätzlich brauchbar.

Besonders vorteilhaft ist der Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination erhältlich aus den Wurzeln und/oder anderen Pflanzenteilen, insbesondere von Rheum rhaponticum.

In einer weiteren Ausführungsform umfasst die Wirkstoffkombination im Wesentlichen Rhaponticin und Desoxyrhaponticin, wobei die Wirkstoffkombination insbesondere im Wesentlichen Rhaponticin und Desoxyrhaponticin in einem Gewichtsverhältnis von etwa 10:1 bis 1:10, wie z.B. in einem Bereich von etwa 5:1 bis 1:5 oder 4: 1 bis 1:4 oder 3:1 bis 1:3 oder 2:1 bis 1:2 oder etwa 1:1, umfassen kann.

In einer speziellen festen Dosierungsform ist die Wirkstoffkombination aus im Wesentlichen Rhaponticin und Desoxyrhaponticin in einem Gewichtsverhältnis von etwa 2:1 bis 1:2 enthalten.

Eine weitere bevorzugte Wirkstoffkombination kann Rhaponticin und Desoxyrhaponticin, insbesondere in oben angegebenen Mengenverhältnissen, sowie Rhapontigenin und/oder Desoxyrhapontigenin umfassen. Der mengenmäßige Anteil von Rhapontige-

nin und/oder Desoxyrhapontigenin am Gesamtwirkstoffgehalt kann über einen weiten Bereich schwanken, und liegt z.B. im Bereich von etwa 0.01 bis 20 Gew.-%, insbesondere 0.1 bis 5 Gew.-%, bezogen auf den Gesamtwirkstoffgehalt.

Weiterhin sind Wirkstoffkombinationen bevorzugt, die einen Hydroxystilben-Gesamtgehalt, insbesondere einen Gesamtgehalt an Desoxyrhaponticin, Desoxyrhapontigenin, Rhaponticin und Rhapontigenin, oder einen Gesamtgehalt an Rhaponticin und Desoxyrhaponticin, von mehr als 90 Gew.-%, wie z.B. 91 bis 100 Gew.-%, oder 92 bis 99 oder 93 bis 98 oder 94 bis 97 Gew.-%, aufweisen.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird eine Wirkstoffkombination verwendet, die im wesentlichen frei ist von Aglycon-Derivaten von Rhaponticin und Desoxyrhaponticin, wie insbesondere Resveratrol und Piceatannol. „Im Wesentlichen frei" bedeutet einen Aglycon-Gehalt von weniger als 5 Gew.-%, insbesondere weniger als 2 Gew.-% wie z.B. weniger als 1 Gew.-% oder 0,1 Gew.-%, wie 0 bis 0,05 Gew.-%, jeweils bezogen auf den Gesamtgehalt an Rhaponticin plus Desoxyrhaponticin.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird als Wirkstoffkombination ein pflanzlicher Trockenextrakt verwendet, der einen hohen Anteil an Glycosiden, insbesondere Glycosiden des oben beschriebenen Typs, aufweist. Glycoside sind insbesondere die oben beschriebenen glycosidischen Vorläufer von Resveratrol und Piceatannol. Diese sind z,B in einem Anteil von 30 bis 100 Gew.-%, 50 bis 100 Gew.-%, vorzugsweise jedoch in Anteilen vor mehr als 76 Gew.-%, wie 76 bis 99 Gew.-% oder 80 bis 98 Gew.-% oder 85 bis 96 Gew.-%, jeweils bezogen auf das Gesamtgewicht des Trockenextrakts enthalten.

Weiterhin sind solche Wirkstoffkombinationen bevorzugt, die einen Gehalt von weniger als 0,5 Gew.-% , wie z.B. 0 – 0,49 Gew.% oder 0,001 bis 0,3 oder 0,01 bis 0,2 oder 0,01 bis 0,1Gew.-% an Anthrachinon und/oder Anthrachinoiden (jeweils bezogen auf Trockengewicht der Wirkstoffkombination) aufweisen. Anthrachinoide sind dabei im weitestens Sinn als Substanzen mit Anthrachinon-Grundgerüst zu verstehen.

Ein „Trockenextrakt" in Sinne der Erfindung liegt insbesondere dann vor, wenn der Restfeuchtegehalt, d.h. der Restanteil an Wasser und/oder organischer Flüssigkeit, (wie Extraktionsmittel) weniger als etwa 5 Gew.-%, insbesondere weniger als 2 Gew.-

%, wie z.B. 0 bis 1,5 Gew.-% oder 0,1 bis 0,5 Gew.-%, jeweils bezogen auf das Gesamtgewicht des erhaltenen Trockenextrakts, beträgt.

Nichtlimitierende Beispiele geeigneter fester Dosierungsformen sind solche, wobei die Wirkstoffkombination im wesentlichen aus etwa

60-66 Gew.-% Rhaponticin
30-35 Gew.-% Desoxyrhaponticin
0-2 Gew.-% Rhapontigenin;
0-2 Gew.-% Desoxyrhapontigenin

besteht.

Bevorzugte feste Dosierungsformen weisen einen Gesamt-Wirkstoffgehalt von etwa 2 bis 20 mg je Dosiseinheit auf.

Insbesondere sind solche festen Dosierungsformen Gegenstand der Erfindung die einen zuckerfreien, insbesondere, Mono- oder Disaccharid-freien, wie z.B. Lactose-freien Kern aufweisen.

Geeignete feste Dosierungsformen können in Form einer Pille, einer Tablette, eines Extrudats oder eines Granulat vorliegen.

Feste Dosierungsformen in Form eines Dragees, gegebenenfalls mit einem magensaftresistenten Überzug sind besonders bevorzugt. Vorzugsweise sind derartige Überzüge frei von Weichmachern, wie Phthalaten, wie z.B. Diethylphthalat. Beschichtungsmittel, welche sich besonders zur Herstellung magensaftresistenter, weichmacherfreier Überzüge eignen, sind ausgewählt unter bekannten natürlichen und synthetischen Beschichtungsmitteln (vgl. z.B. Voigt, Pharmazeutische Technologie, 7. Auflage 1993, Ullstein Mosby, Berlin). Besonders geeignete Beschichtungsmittel sind, ohne darauf beschränkt zu sein, Schellack und Cellulosederivate, wie Hydroxypropylmethylcellulosederivate, wie z.B. Hydroxypropylmethylcelluloseacetatsuccinat, erhältlich unter der Handelsbezeichnung AQOAT.

Insbesondere ist eine feste Dosierungsform mit einem Gesamtgewicht im Bereich von etwa 150 mg ± 20 mg einem Kerngewicht von 84 mg ± 10 mg und einem Wirkstoffgehalt von etwa 3 bis 10 mg zu nennen.

Bevorzugt sind weiterhin feste Dosierungsformen, wobei diese eine Gleichförmigkeit des Wirkstoffgehalts (gemittelt über 10 oder 20 zufällig ausgewählte einzelne Dosiseinheiten) maximal ± 5 Gew.-%, wie z.B. ± 0,1 bis 4 oder ± 0,5 bis 3 oder ± 1 bis 2 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Dosiseinheit, aufweisen (z.B. bestimmt nach Ph. Eur. 5. Ausgabe 2005 (5.0/2.09.06.00)).

Gegenstand der Erfindung ist weiterhin ein Verfahren zur Herstellung einer festen Dosierungsform, wobei man

a) den Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination mit dem pharmazeutisch verträglichen Träger mischt; und
b) die Mischung zum Wirkstoffkern verfestigt.

Vorzugsweise wird dazu der Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination in einer inerten Flüssigkeit gelöst oder dispergiert und mit dem Träger gemischt und das Lösungsmittel während oder nach der Verfestigung entfernt.

Vorteilhafterweise stellt man den erfindungsgemäß verwendeten Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination dadurch her, dass man

a) einen Wirkstoff-haltigen Teil einer Drogenpflanze, gegebenenfalls in zerkleinerter Form, bereitstellt,
b) diesen mit einem wässrigen Extraktionsmittel versetzt,
c) nach Einwirken des Extraktionsmittels eine Flüssigextraktphase aus der Mischung gewinnt und die Extraktion gegebenenfalls mehrfach wiederholt, und
d) das Extraktionsmittel aus den so erhaltenen Flüssigextraktphasen entfernt.

Vorzugsweise führt man dabei eine Extraktion mit einem wässrigen Extraktionsmittel bei einem pH-Wert der Mischung im alkalischen Bereich durchführt.

Die extrahierte Drogenpflanze ist insbesondere unter Pflanzen der Gattung Rheum spp, Astragalus spp,Cassia spp oder Picea spp ausgewählt.

In einer bevorzugten Variante des Herstellungsverfahrens mischt man die Gesamtmenge des Wirkstoffs oder der Wirkstoffkombination portionsweise mit dem pharmazeutisch verträglichen Träger, wie z.B. Avicel oder einem vergleichbaren Träger auf Cellulosebasis, insbesondere mikrokristalliner Cellulose, und wiederholt den Mischvorgang nach jeder Trägerzugabe, mindestens jedoch ein oder zweimal. Insbesondere wird dabei mit einer Kugelmühle über eine Dauer von 30 Minuten bis 3 Stunden, wie z.B. 1 bis 2 Stunden gemischt. Beispielsweise kann man zum Mischen übliche Laborkugelmühlen, wie in den Beispielen beschrieben, verwenden. Dadurch erhält man eine homogene und stabile Verteilung des Wirkstoffs im Träger.

Nach einer weiteren Verfahrensvariante versieht man den Wirkstoffkern mit einem magensaftresistenten, vorzugsweise weichmacherfreien, Überzug.

Nach einer weiteren bevorzugten Variante wird dabei der Kern dragiert.

Gegenstand der Erfindung sind auch flüssige Dosierungsformen, enthaltend einen Wirkstoff oder eine Wirkstoffkombination gemäß obiger Definition einem Anteil von etwa 0,1 bis 20 mg/ml, wie z.B. 0,5 bis 15 oder 1 bis 10 oder 2 bis 5 mg/ml, in einem Lösungsmittelgemisch, umfassend Wasser und einen pharmazeutisch verträglichen Alkohol, wie insbesondere Ethanol. Vorzugsweise ist das Lösungsmittelgemisch ein Wasser/Ethanolgemisch mit einem Ethanolanteil von 10 bis 50 oder 20 bis 40 oder 25 bis 35 Vol.-%, wie z.B. 30 Vol.-%. Diese flüssigen Dosierungsformen sind insbesondere als Tropfen zur oralen Verabreichung formuliert.

Gegenstand der Erfindung sind auch halbfeste Dosierungsformen, enthaltend einen Wirkstoff oder eine Wirkstoffkombination gemäß obiger Definition in einem Anteil von etwa 1 bis 12 , oder 2 bis 6 mg Wirkstoff oder Wirkstoffkombination (pro Gramm der Formulierung) in einem üblichen halbfesten Träger. Geeignet gelbildende Träger sind allgemein bekannt und z.B. ausgewählt unter quellbaren Cellulosederivaten, wie Hydroxypropylmethylcellulose, oder Polyacrylaten, wie z.B. Carbopol, oder Gelatine. Derartige Dosierungsformen können z.B Anwendung finden als Vaginalgel oder Vaginalkugeln.

Gegenstand der Erfindung ist auch ein Mittel, umfassend eine feste, halbfeste oder flüssige Dosierungsformen nach obiger Definition. Mittel im Sinne der Erfindung sind

insbesondere pharmazeutische Mittel oder Arzneimittel, wie z.B. Homöopathika, sowie Arzneipflanzenzubereitungen.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft die Verwendung einer festen, halbfesten oder flüssigen Dosierungsform nach obiger Definition oder hergestellt nach einem der oben beschriebenen Verfahren zur Herstellung eines Mittels gemäß obiger Definition zur Behandlung von klimakterischen Beschwerden der Frau, insbesondere zur Behandlung von klimakterischen Beschwerden in der Prä- oder Postmenopause, sowie klimakterischen Beschwerden aufgrund natürlicher oder therapeutisch verursachter Menopause. Klimakterische Beschwerden sind dabei insbesondere Hitzewallungen, Schweißausbrüche, Schlafstörungen, Reizbarkeit, physische und mentale Erschöpfung, Sexualprobleme und Harntraktbeschwerden. Weiterhin ist Gegenstand der Erfindung eine Verwendung zur Behandlung juveniler Oligomenorrhoe und Dysmenorrhoe, primärer und sekundärer Amenorrhoe oder Endometritis.

Aufgrund der ausgezeichneten Verträglichkeit der oben beschriebenen Wirkstoffe bzw. Wirkstoffkombinationen ist Gegenstand der Erfindung auch die Verwendung im Rahmen einer Langzeittherapie, die zeitlich unbegrenzt erfolgen kann. Die dabei zu verabreichende tägliche Dosis kann im Bereich von 0,1 bis 20 mg oder 0,5 bis 15 mg, 1 bis 10 oder 4 bis 8 mg Wirkstoff oder Wirkstoffkombination, wie z.B. ERr 731® liegen.

Eine Behandlung in Sinne der Erfindung umfasst sowohl eine akute als auch eine präventive Verabreichung erfindungsgemäßer Mittel.

Schließlich betrifft die vorliegende Erfindung auch die Verwendung der oben beschriebenen Wirkstoffe bzw. Wirkstoffkombinationen, z.B. formuliert in einer der oben beschriebenen Dosierungsformen, zur selektiven Aktivierung von ERß, d.h. Aktivierung von ERß ohne gleichzeitige wesentliche oder detektierbare Aktivierung von ERα in vivo oder in vitro.

Gegenstand der Erfindung ist daher insbesondere auch die Verwendung eines Wirkstoffs oder einer Wirkstoffkombination nach obiger Definition (wie insbesondere von ERr731 oder ähnlichen Rhaponticin und/oder Desoxyrhaponticin enthaltenden Kombinationen) zur Behandlung einer der oben definierten Erkrankung durch selektive Aktivierung von ERß, d.h. Aktivierung von ERß ohne gleichzeitige wesentliche oder detektierbare Aktivierung von ERα.

2. Weitere spezielle Ausgestaltungen erfindungsgemäßer Formulierungen

a) Dosierungsformen

Die erfindungsgemäße Lehre richtet sich vor allem auf die Herstellung fester, halbfester oder flüssiger Dosierungsformen zur Behandlung eines Menschen. So werden die erfindungsgemäß zu verwendenden Wirkstoffe gewöhnlich in Form von pharmazeutischen Zusammensetzungen verabreicht, die einen pharmazeutisch verträglichen Exzipienten mit wenigstens einem erfindungsgemäßen Wirkstoff und gegebenenfalls weiteren Wirkstoffen umfassen. Diese Zusammensetzungen sind insbesondere auf oralem Weg verabreichbar.

Beispiele geeigneter pharmazeutischer Formulierungen sind insbesondere feste Arzneiformen, wie Granulate, Tabletten, Pastillen, Sachets, Cachets, Dragees und Kapseln wie Hart- und Weichgelatinekapseln, Globuli, Suppositorien oder vaginale Arzneiformen, halbfeste Arzneiformen, wie Salben, Cremes, Hydrogele, Pasten oder Pflaster, sowie flüssige Arzneiformen, wie Lösungen, Emulsionen, insbesondere Öl-in-Wasser-Emulsionen, Suspensionen, beispielsweise Lotionen, Injektions- und Infusionszubereitungen, Augen- und Ohrentropfen, Nasentropfen, Nasenspray und Tinkturen. Auch implantierte Abgabevorrichtungen können zur Verabreichung erfindungsgemäßer Inhibitoren verwendet werden. Ferner können auch Liposomen, Mikrosphären oder Polymermatrizes zur Anwendung kommen.

Bei der Herstellung der Zusammensetzungen werden erfindungsgemäße Wirkstoffe gewöhnlich mit einem Exzipienten vermischt oder verdünnt. Exzipienten können feste, oder halbfeste Materialien sein, die als Vehikel, Träger, Adsorbens oder Medium für den Wirkstoff oder die Wirkstoffkombinationen dienen.

Zu geeigneten Exzipienten gehören, sofern keine anderen Angaben gemacht werden, beispielsweise Lactose, Dextrose, Succrose, Sorbitol, Manitol, Stärken, Akaziengummi, Calciumphosphat, Alginate, Traganth, Gelantine, Calciumsilikat, mikrokristalline Cellulose, Polyvinylpyrrolidon, Cellulose und Methylcellulose. Ferner können die Formulierungen übliche pharmazeutisch akzeptable Hilfsstoffe, wie Gleitmittel, beispielsweise Talg, Magnesiumstearat und Mineralöl; Netzmittel; emulgierende und suspendierende

Mittel; konservierende Mittel, wie Methyl- und Propylhydroxybenzoate; Antioxidantien; Antireizstoffe; Chelatbildner; Dragierhilfsmittel; Emulsionsstabilisatoren, Filmbildner; Gelbildner; Geruchsmaskierungsmittel; Geschmackskorrigentien; Harze; Hydrokolloide; Lösemittel; Lösungsvermittler; Neutralisierungsmittel; Permeationsbeschleuniger; Pigmente; quaternäre Ammoniumverbindungen; Rückfettungs- und Überfettungsmittel; Salben-, Creme- oder Öl-Grundstoffe; Silikon-Derivate; Spreithilfsmittel; Stabilisatoren; Sterilanzien; Tabletten-Hilfsstoffe, wie Bindemittel, Füllstoffe, Gleitmittel, Sprengmittel oder Überzüge; Treibmittel; Trocknungsmittel; Trübungsmittel; Verdickungsmittel; Wachse; Weichmacher; umfassen. Eine diesbezügliche Ausgestaltung beruht auf fachmännischem Wissen, wie beispielsweise in Fiedler, H.P., Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete, 4. Auflage, Aulendorf: ECV-Editio-Kantor-Verlag, 1996, dargestellt ist. Vgl. auch Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Springer Verlag, Heidelberg.

Erfindungsgemäß geeignete Lösungsmittel für die Herstellung von Formulierungen sind insbesondere zu nennen ein- oder mehrwertige Alkohole, wie insbesondere Ethanol, Glycerin und Mischungen davon mit Wasser, wie z.B. 1 bis 50 Vol.-% Ethanol in Wasser.

Die Herstellung erfindungsgemäßer Darreichungsformen bzw. pharmazeutischer Mittel erfolgt unter Anwendung allgemein bekannter Methoden der pharmazeutischen Technologie, wie z.B. beschrieben in Voigt, Pharmazeutische Technologie, 7. Auflage 1993, Ullstein Mosby, Berlin.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird ein pharmazeutisches Mittel bereitgestellt, das eine feste Dosierungsform umfasst. Diese feste Dosierungsform umfasst ihrerseits einen wirkstoffhaltigen festen Kern mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger und einem Wirkstoffgehalt von etwa 1 bis 20 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des Kerns, wobei der Wirkstoff ein Hydroxystilben-haltiger Wirkstoff oder eine Hydroxystilben-haltige Wirkstoffkombination ist, die eine Verbindung ausgewählt unter Resveratrol- und Piceatannol-Prodrugs, wie Rhaponticin, Desoxyrhaponticin, Rhapontigenin, Desoxyrhapontigenin und Astringin; sowie Resveratrol und Piceatannol; sowie deren stereoisomeren Formen, jeweils in Form ihrer Salze oder in der Phenolform, oder Kombinationen dieser Verbindungen umfasst. Bevorzugte Wirkstoffkombinationen sind wie oben definiert.

Diese feste Dosierungsform hat beispielsweise einem Gesamt-Wirkstoffgehalt von etwa 1 bis 20 mg, wie z. B. 2 bis 10 mg, je Dosiseinheit und kann in Form einer Pille, einer Tablette, eines Extrudats oder eines Granulat vorliegen und z.B. dragiert sein. Gewünschtenfalls kann sie auch einen magensaftresistenten Überzug aufweisen.

Die feste Dosierungsform wird z.B. hergestellt, indem man den Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination mit dem pharmazeutisch verträglichen Träger mischt und die Mischung zum Wirkstoffkern verfestigt. Dabei löst oder dispergiert man den Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination in einer inerten Flüssigkeit, mischt ihn/sie mit dem Träger und entfernt das Lösungsmittel während oder nach der Verfestigung. Den Wirkstoffkern kann man dann gegebenenfalls mit einem magensaftresistenten Überzug versehen, bevor man den Kern in üblicher Weise dragiert.

Erfindungsgemäße flüssige Dosierungsformen werden z.B. dadurch hergestellt, indem man den oder die Wirkstoffe, wie z.B. einen ERr731® Trockenextrakt, in einem geeigneten Lösungsmittel, wie. z.B einem Wasser/Alkoholgemisch, ggf. zusammen mit weiteren üblichen Zusätzen, löst.

Erfindungsgemäße halbfeste Dosierungsformen, wie z.B. Gele stellt man beispielsweise her, indem man den oder die Wirkstoffe, wie z.B. einen ERr 731® Trockenextrakt, in einem geeignete Lösungsmittel, wie z.B einem Wasser/Alkoholgemisch, Alkohol oder Glycerin, löst und die Lösung in den bereits gequollenen Gelbildner, ggf. zusammen mit weiteren üblichen Zusätzen einarbeitet.

Art und Dauer der Verabreichung der erfindungsgemäßen Arzneimittel obliegen der Entscheidung des behandelnden Arztes. Dieser kann in Abhängigkeit vom gewählten Verabreichungsweg, von der Wirksamkeit der konkreten Wirkstoffzusammensetzung, der Art und Schwere der zu behandelnden Erkrankung, vom Befinden des Patienten und von dessen Ansprechen auf die Therapie eine geeignete Dosis und einen entsprechenden Dosierungsplan festlegen. Beispielsweise kann eine geeignete Einzeldosis etwa 0,1 bis 50 mg, wie z.B. 2 bis 12 mg, Wirkstoff oder Wirkstoffkombination gemäß obiger Definition enthalten und 1 bis 3-mal täglich verabreicht werden, bis der gewünschte Behandlungserfolg zu beobachten ist.

b) Herstellung eines erfindungsgemäß verwendbaren Drogenextrakts

Erfindungsgemäß verwendbare Drogenextrakte werden bevorzugt hergestellt, indem man

a) einen Hydroxystilben-haltigen Teil einer Drogenpflanze, gegebenenfalls in zerkleinerter Form, bereitstellt,
b) diesen mit einem wässrigen, organischen oder wässrig-organischen Extraktionsmittel versetzt,
c) nach Einwirken des Extraktionsmittels eine Flüssigextraktphase aus der Mischung gewinnt und die Extraktion gegebenenfalls mehrfach wiederholt, und
d) das Extraktionsmittel aus den so erhaltenen Flüssigextraktphasen entfernt.

Insbesondere umfasst der so erhaltene Extrakt wenigstens eine Verbindung, ausgewählt unter Rhaponticin, Desoxyrhaponticin, Rhapontigenin, Desoxyrhapontigenin als Salz oder in phenolischer Form, in einer stereoisomeren Form davon, wie cis- oder trans-Form, oder als Gemisch solcher stereoisomeren Formen.

Vorzugsweise liegen die extrahierten Hydroxystilbene aber im wesentlichen in der trans-Form vor. Salze sind insbesondere die Alkali- und Erdalkaliphenolate obiger Verbindungen, die eine oder mehrere freie phenolische Hydroxylgruppen aufweisen. Liegen mehrere Hydroxylgruppen vor, so können diese teilweise oder vollständig in der Salzform vorliegen.

Die anfallenden Pflanzenextrakte oder einzelne Komponenten davon können, wie bereits erwähnt, auch Derivatisierungsreaktionen unterzogen werden, um sogenannte funktionelle Derivate zu erhalten.

Bevorzugt wird eine Wirkstoffkombination aus wenigsten zweien der oben genannten Verbindungen erhalten, wie z.B. 2, 3, 4, 5, 6, 7 oder 8 Einzelverbindungen, wobei die Gruppe der Resveratrol-Vorläufer (insbesondere Desoxyrhaponticin und Desoxyrhapontigenin) und der Piceatannol-Vorläufer (insbesondere Rhaponticin und Rhapontigenin) durch jeweils eine Verbindung vertreten ist

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird ein Extrakt bereitgestellt, der einen hohen Anteil an Glycosiden, insbesondere Glycosiden des oben beschriebenen Typs, aufweist, wie z.B. einen Anteil von 30 bis 100 Gew.-%, 50 bis 100 Gew.-%, 60 bis 99 Gew.-% oder 80 bis 98 Gew.-% oder 85 bis 96 Gew.-%, jeweils bezogen auf das Gesamtgewicht des erhaltenen Trockenextrakts. Ein „Trockenextrakt" in Sinne der Erfindung liegt insbesondere dann vor, wenn der Restfeuchtegehalt, d.h. der Restanteil an Wasser und/oder organischer Flüssigkeit, (wie Extraktionsmittel) weniger als etwa 5 Gew.-%, insbesondere weniger als 2 Gew.-%, wie z.B. 0 bis 1,5 Gew.-% oder 0,1 bis 0,5 Gew.-%, jeweils bezogen auf das Gesamtgewicht des erhaltenen Trockenextrakts, beträgt.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird ein Extrakt bereitgestellt, der im wesentlichen frei ist von Aglycon-Derivaten von Rhaponticin und Desoxyrhaponticin, wie insbesondere Resveratrol und Piceatannol. „Im Wesentlichen frei" bedeutet einen Aglycon-Gehalt von weniger als 5 Gew.-%, insbesondere weniger als 2 Gew.-% wie z.B. weniger als 1 Gew.-% oder 0,1 Gew.-%, wie 0 bis 0,05 Gew.-%, jeweils bezogen auf den Gesamtgehalt an Rhaponticin und Desoxyrhaponticin.

Weiterhin werden Wirkstoffkombinationen bevorzugt hergestellt, die einen Hydroxystilben-Gesamtgehalt von mehr als 90 Gew.-%, wie z.B. 91 bis 100 Gew.-%, oder 92 bis 99 oder 93 bis 98 oder 94 bis 97 Gew.-%, aufweisen.

Weiterhin werden solche Wirkstoffkombinationen bevorzugt hergestellt, die einen Gehalt von weniger als 0,5 Gew.-% , wie z.B. 0 – 0,49 Gew.% oder 0,001 bis 0,3 oder 0,01 bis 0,2 oder 0,01 bis 0,1Gew.-% an Anthrachinon und/oder Anthrachinoiden (jeweils bezogen auf Trockengewicht der Wirkstoffkombination) aufweisen. Anthrachinoide sind dabei im weitesten Sinn als Substanzen mit Anthrachinon-Grundgerüst zu verstehen.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist die zu extrahierende Drogenpflanze ausgewählt unter natürlichen Pflanzen sowie durch Züchtung veränderten oder rekombinanten, genetisch veränderten, Pflanzen, die einen in Vergleich zur entsprechenden unveränderten Pflanze höheren Gehalt an wenigstens einem der gewünschten Inhaltsstoffe aufweisen. Insbesondere sind diese Pflanzen ausgewählt unter Pflanzen der Gattung Rheum spp., Astragalus spp., Cassia spp. oder Picea spp. oder wirkstoffhalti-

gen Pflanzenteilen. Nichtlimitierende Beispiele für geeignete Arten dieser Gattungen sind Rheum undulatum, Rheum palmatum, Rheum tataricum, Rheum officinale, Rheum wittrockii, Rheum altaicum, Rheum reticulatum, Astragalus complanatus, Cassia garrettiana und Picea sitchensis. Bevorzugt ist außerdem der Einsatz sortenreiner Drogenpflanzen.

Dem Fachmann ist außerdem bewusst, dass Gattungen/Arten unterschiedlicher Provinienz sowie verschiedenen Alters (d.h. Ernte zu verschiedenen Zeiten der Vegetationsperiode) einsetzbar sind, was wiederum Einfluss auf Art, Menge und Zusammensetzung der daraus isolierbaren Hydroxystilbene und Gemische haben kann. Ebenso sind verschiedene Pflanzenteile, wie Wurzeln, Rhizome, Blätter und/oder Stängel, grundsätzlich brauchbar.

Das jeweilige Pflanzenteil oder Gemisch von Pflanzenteilen kann, falls zweckmäßig, vor der Extraktion mechanisch behandelt, wie z.B. gemahlen, gehackt, gehaspelt, gestampft oder geschnitten werden. Falls zweckmäßig, kann auch eine Vortrocknung, wie z.B. 2 Stunden bis 2 Tage bei 30 bis 50°C erfolgen, um den Flüssigkeitsgehalt zu reduzieren.

Insbesondere ist der zur Extraktion verwendete, Hydroxystilben-haltige Teil der Drogenpflanze die Wurzel der Drogenpflanze, wie z.B. von Rheum rhaponticum.

Gegenstand der Erfindung ist insbesondere ein Verfahren, bei dem man von der Droge ein Hydroxystilben-haltiges Perkolat herstellt. Unter einer „Perkolation" versteht man ein kontinuierliches Ausziehen löslicher Stoffe einer Droge durch laufende Erneuerung des Lösungsmittels. Dadurch besteht dauernd ein Konzentrationsgefälle, so dass ein großer Teil aller löslichen Stoffe in den Auszug übergeht.

Alternativ ist auch eine kontinuierliche oder periodische Durchmischung des Ansatzes, wie z.B. durch Rühren oder Schütteln, möglich.

Die Temperatur während der erfindungsgemäßen Extraktion liegt gewöhnlich im Bereich von 10 bis 50°C, wie z.B. 25 bis 35°C. Der Druck liegt gewöhnlich bei Normaldruck. Falls eine Beschleunigung der Extraktionsgeschwindigkeit oder Extraktqualität

erzielbar ist, kann der Druck während der Extraktion auch variiert, wie z.B. erhöht oder verringert werden.

Die Extraktionsdauer kann dabei je nach den gewählten Bedingungen, wie Art der Droge, Ansatzgröße, verwendetem Extraktionsmittel und Temperatur, 1 Stunde bis mehrere Tage, wie z.B. 10 bis 72 Stunden erfordern.

Der Extraktionsvorgang kann erforderlichenfalls mehrfach wiederholt werden, um eine möglichst vollständige Isolierung insbesondere der gewünschten Inhaltsstoffe zu gewährleisten. Das Gewichtsverhältnis von vorgelegter Droge zu flüssigem Extraktionsmittel kann über einen weiten Bereich sowie von Extraktionsschritt zu Extraktionsschritt variieren. Typischerweise liegt das Gewichtsverhältnis von Droge zu Extraktionsmittel im Bereich von 10:1 bis etwa 1:200 oder etwa 1:2 bis 1:50, oder 1:4 bis 1:10.

Gemäß einer Verfahrensvariante führt man eine Extraktion mit einem wässrigen, im wesentlichen an organischem Lösungsmittel freiem Extraktionsmittel, wie insbesondere Wasser, vorzugsweise gereinigtem Wasser, bei einem pH-Wert der Mischung im alkalischen Bereich durch, wobei der pH-Wert der Mischung insbesondere im Bereich von etwa 11 bis 12, wie z.B. bei etwa 11,3 bis 11,8 liegt.

Dabei wird der pH-Wert der Mischung beispielsweise mit Hilfe einer anorganischen Base, ausgewählt unter Alkali- und Erdalkalimetallhydroxiden, wie z.B. Calciumhydroxid oder Calciumoxid, eingestellt. Zu diesem Zweck kann man beispielsweise eine konzentrierte Löschkalklösung herstellen, indem man 3 bis 8 Teile CaO in 20 Teilen gereinigtem Wasser löst. Diese Lösung ist stark alkalisch und weist einem pH-Wert im Bereich von etwa 12 bis 13, wie z.B. von etwa 12,4 bis 12,6, auf.

Das Mengenverhältnis von vorgelegter Droge zu Base, wie z.B. Calciumhydroxid (berechnet als Calciumoxid) kann erfindungsgemäß im Bereich von etwa 5:1 bis 20:1, wie etwa 8:1 bis 12:1 oder 9:1 bis 11:1, liegen.

Bevorzugt wird das Verfahren so durchgeführt, dass man aus der erhaltenenen alkalischen Flüssigextraktphase die gewünschten Hydroxystilbene ausfällt, beispielsweise indem man den pH-Wert des Extrakts auf einen Wert im Bereich von etwa 3 bis 4, wie

z.B. 3,2 bis 3,8 oder 3,4-3,6, einstellt und gegebenenfalls anschließend den Niederschlag abtrennt, gegebenenfalls wäscht und gegebenenfalls trocknet.

Zur Ansäuerung verwendet man dabei eine beliebige anorganische oder organische Säure, wie z.B. Salzsäure oder Schwefelsäure, insbesondere aber organische Säuren wie Ameisensäure oder Essigsäure.

Vor dem Abtrennen des Niederschlags kann es zweckmäßig sein, den Ansatz einige Stunden oder Tage ruhen zu lassen, um eine möglichst quantitative Fällung der gewünschten extrahierten Inhaltsstoffe zu erreichen.

Das Waschen des Niederschlags kann z.B. mit gereinigtem Wasser erfolgen und dient insbesondere zur Entfernung restlicher Säure.

Durch Trocknen, z.B. bei 30 bis 50°C oder 35 bis 45°C, beispielsweise über einen Zeitraum von 1 bis 100 Stunden, wird restliche Flüssigkeit aus dem Extrakt entfernt, bis die Restfeuchte im oben angegebenen Bereich liegt. Die Trocknung erfolgt in an sich bekannter Weise, z.B. in einem Trockenschrank. Eine Gefriertrocknung ist ebenfalls möglich.

Die Erfindung wird nun anhand folgender nichtlimitierender Beispiele weiter erläutert.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden:

Bestimmung von Stilbenen durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) in Trockenextrakt aus Rhapontikrhabarberwurzel

a) Probenvorbereitung:

50 mg Extrakt werden mit 40 ml einer Mischung aus Aceton und Wasser (1:1) in einem Braunglasgefäß versetzt, 15 Minuten im Ultraschallbad behandelt und mit der Lösungsmittelmischung auf 50 ml aufgefüllt und anschließend 1:10 mit der Lösungsmittelmischung verdünnt.

b) Durchführung der Chromatographie:

Mit einem Teil der oben erhaltenen Lösung wird eine Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit folgenden Systemparametern durchgeführt:

Probenschleife:	20µl
Säule:	Lichrospher 5 µ RP 18, 250 x 4 mm
Vorsäule:	Lichrospher 5 µ RP 18, 5 x 4 mm
Säulentemperatur:	25 °C
Fließmittel A:	Acetonitril/dest. Wasser/Phosphorsäure 85 %, 15/85/0,05 (Volumenteile)
Fließmittel B:	Acetonitril/dest. Wasser/Phosphorsäure 85 % 80/20/0,05 (Volumenteile)
Fluss:	1,5 ml/min
Säulenspülung:	15 min mit Eluent 50 % B; Equilibrierzeit 15 min
Detektion:	310 nm
HPLC:	Kontron Kroma 2000

Gradient:

Zeit	% B
0,0	0
0,5	0
7,5	75
8,5	100
9,5	0
12,5	0

Unter den oben angegebenen Systembedingungen ergeben sich folgende Retentionszeiten:

Rhaponticin:	ca. 5,5 min
Desoxyrhaponticin:	ca. 6,8 min
Rhapontigenin:	ca. 7,2 min
Desoxyrhapontigenin:	ca. 9,0 min

Für eine quantitative Bestimmung werden die jeweiligen Peak-Flächen ermittelt und mit den entsprechenden Peak-Flächen eines Standard-Extraktes bekannter Zusammensetzung verglichen.

Herstellungsbeispiel 1: Herstellung des Trockenextraktes ERr 731 aus Rhapontikrhabarberwurzel mit einer wässrigen Calciumhydroxid-Lösung

Für die Herstellung eines Trockenextraktes aus Rhapontikrhabarberwurzel werden eingesetzt:

Droge (Radix rheum rhaponticum)	50,0 kg
Calciumoxid	5,0 kg
Gereinigtes Wasser	190,0 kg

Essigsäure (je nach Bedarf um den erforderlichen pH-Wert einzustellen)

Die erzielbare Ausbeute liegt dabei zwischen 2 und 3 kg je 50 kg Droge.

Die Herstellung erfolgt in folgenden Schritten:

a) In einen Plastikbottich werden zunächst 5 kg Calciumoxid gefüllt und mit 20 kg gereinigtem Wasser aufgeschlämmt. Die unter diesen Bedingungen stattfindende Bildung von Calciumhydroxid (Löschkalk) führt zu einem starken Temperaturanstieg der Lösung. Daher kann das Calciumhydroxid erst nach Abkühlen weiter verwendet werden. Die Temperatur der Lösung liegt dann bei 30°C bis 35°C.

b) 50 kg Droge werden in einen Mischer gefüllt und mit dem oben erwähnten Löschkalk versetzt. Um den Löschkalk möglichst vollständig aus dem Plastikbottich zu entfernen, wird dieser mit 10 kg gereinigtem Wasser nachgespült. Diese Waschflüssigkeit wird ebenfalls in den Mischer gegeben.

c) Die mit Löschkalk homogen durchmischte Droge wird in einen Perkolator gefüllt und mit 160 kg gereinigtem Wasser überschichtet. Der Perkolator bleibt für 48 Stunden verschlossen. Anschließend wird das Perkolat in einem geeigneten Gefäß mit einer Flussrate von 50ml/min aufgefangen. Die Perkolation wird solange fortgesetzt, bis kein Perkolat mehr austritt. Die Drogenmasse wird nach Beendigung nicht ausgepresst, sondern verworfen.

d) Unter permanenter Kontrolle wird dem Perkolat solange konzentrierte Essigsäure zugefügt, bis ein pH-Wert erreicht ist, der im Bereich von 3,4 bis 3,6 liegt. Um eine möglichst vollständige Fällung des Extraktes zu erreichen, ruht der Ansatz für 5 Tage.

e) Die Gewinnung des Trockenextraktes erfolgt durch Filtration über Büchnertrichter unter angelegtem Vakuum. Abschließend wird der Extrakt noch mit 10 bis 20 kg gereinigtem Wasser gewaschen.

f) Der nach Filtration erhaltene Trockenextrakt wird im Trockenschrank bei 40°C solange getrocknet, bis eine Restfeuchte-Toleranz von max. 1 % erreicht ist.

Rhaponticin ist in wässrigen Lösungen mit alkalischem pH-Bereich gut löslich, während es im sauren pH-Bereich (pH 3,4 - 3,6) als gelbliche Substanz ausfällt. Dies macht man sich bei seiner Isolierung zu Nutzen. Da die Wurzel neben anderen organischen Säuren vor allem einen hohen Gehalt an Oxalsäure besitzt (2/3 in wasserlöslicher und 1/3 in gebundener Form) muss diese während der Isolation neutralisiert werden, um ein Abdriften des pH-Werts in den sauren Bereich zu verhindern und so ein frühzeitiges Ausfallen des Rhaponticins zu unterbinden. Dies wird durch den Einsatz von Calciumoxid erreicht. Dieses wird als Löschkalk-Lösung mit einem pH-Wert von 12,4 - 12,6 eingesetzt.

Wird der Löschkalk mit der Droge homogen durchmischt, so verändert sich der pH-Wert der Mischung. Er liegt dann im Bereich von 11,3 bis 11,8, wodurch ein Ausfällen von Rhaponticin verhindert wird, da die phenolische Form in eine Phenolat-Form überführt wurde. Trotz des hohen Gehalts an Oxalsäure kann der pH-Wert im alkalischen Bereich gehalten werden. Dies ist darauf zurückzuführen, dass das Calciumhydroxid mit Oxalsäure reagiert und unlösliches und ungiftiges Calciumoxalat bildet.

Durch die anschließende Perkolation mit gereinigtem Wasser wird Rhaponticin aus der Wurzel extrahiert. Nach Beendigung der Perkolation wird durch Zugabe von Essigsäure ein pH-Wert von 3,4 bis 3,6 eingestellt. Dieser pH-Shift vom alkalischen in den sauren Bereich führt zum Ausfällen von Rhaponticin durch Rückführung in die phenolische Form. Um eine möglichst vollständige Fällung des Rhaponticins zu erreichen, lässt

man den Ansatz 5 Tage stehen. Danach wird abfiltriert. Rhaponticin bleibt als gelbliche Substanz auf dem Filter zurück.

Obige Ausführungen zu Rhaponticin gelten entsprechend für die anderen erfindungsgemäß isolierten Hydroxystilbenwirkstoffe.

Herstellungsbeispiel 2: Herstellung eines Trockenextraktes aus Rhapontikrhabarberwurzel mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln

In der hier als Droge verwendeten Rhapontikrhabarberwurzel gehören die hauptsächlich nachweisbaren Inhaltstoffe zur Gruppe der Hydroxystilbene. Aus dieser Gruppe finden sich in den Wurzeln Rhaponticin (Rh) mit einem Anteil von etwa 6 % und Desoxyrhaponticin (DRh) mit einem Anteil von etwa 4 %.

Bei Einwirkung der im Folgenden angegebenen Lösungsmittelsysteme in der 100-fachen Menge, bei Raumtemperatur für 10 Minuten unter Schütteln oder Rühren lassen sich die nachfolgend zusammengefassten Anteile extrahieren:

Ethanol 86 %	Rh	100,8 %
	DRh	99,5 %
Ethanol 15 %	Rh	77,1 %
	DRh	75,5 %
Aceton	Rh	88,3 %
	DRh	96,6 %
Wasser, alkalisch (pH 11, eingestellt mit CaO-Lösung)	Rh	75,5 %
	DRh	60,5 %

Keine brauchbaren Resultate wurden mit Heptan erzielt.

Die jeweiligen Ausbeuten an Rohextrakten in Massenanteilen (bezogen auf eingesetzte Droge) sind folgende:

Ethanol 86 %	35,5 %
Ethanol 15 %	32,2 %
Aceton	21,4 %
Heptan	0 %
Wasser, alkalisch	4,5 %

Die Extraktion von Rhapontikrhabarberwurzel mit Ethanol-Wasser-Gemischen führt zu einem Extrakt, der neben den Hauptinhaltsstoffen Rhaponticin (ca. 30 %) und Desoxyrhaponticin (ca. 22 %), ein weiteres z.Zt. noch nicht erforschtes Stilben in ca. 20 % Anteil am Extrakt enthält. Daneben erhält man die Aglycone Rhapontigenin (ca. 8 %) und Desoxyrhapontigenin (ca. 2 %) und noch 9 weitere Verbindungen, die sich zu ca. 20 % summieren.

Bei der Extraktion mit Aceton erhält man grundsätzlich gleiche Ergebnisse.

Die Extraktion mit alkalisiertem Wasser (vgl. Bedingungen gemäß Herstellungsbeispiel 1) führt zu einem Extrakt höherer Reinheit.

Die Hauptinhaltsstoffe Rhaponticin und Desoxyrhaponticin sind in einen ca. 97 %igen Anteil im trockenen Extrakt enthalten. Rhapontigenin und Desoxyrhapontigenin ergeben im Extrakt einen Anteil von zusammen 1,1 %, während das noch nicht erforschte Stilben lediglich in einem Anteil von 0,2 % enthalten ist. Weitere 3 Verbindungen sind in einem 2,5 %igen Anteil enthalten.

Formulierungsbeispiel 1: Herstellung einer festen Dosierungsform –Minitablette

1. Herstellung des Tablettenkerns:

Ein fester Tablettenkern wird unter Verwendung folgender Wirk- und Hilfsstoffe in den angegebenen Mengenverhältnissen (Tl = Gewichtsteile) hergestellt. Die Bestandteile werden auf drei verschieden Weisen vermischt und tablettiert:

a) Rezeptur für Tablettenkern:

Gereinigter Trockenextrakt gemäß

Herstellungsbeispiel 1		
aus Rhapontikrhabarberwurzel (ERr 731®)	3,6 Tl	
Mikrokristalline Cellulose (z.B. Avicel®)	57,0 Tl	(± 40 %)
Sorbit	8,0 Tl	"
Talkum	2,5 Tl	"
Makrogol 6000 (Polyglykol)	1,6 Tl	"
Polyvidon (K-Wert ca. 25, z.B. Kollidon® 25)	1,6 Tl	"
Natriumdodecylsulfat (z.B. Texapon® K 12)	0,5 Tl	"
Magnesiumstearat (pflanzlich)	0,8 Tl	"
	75,6 Tl	(± 40 %)

Durch Variation der eingewogenen ERr 731®-Menge und/oder Variation der mikrokristallinen Cellulose-Menge können beliebige ERr 731®-Gehalte des Rohkerns erhalten werden (wie z.B. 2, 4, 6, 8, 10, 12 mg je Tablette).

b) Mischen von Droge und Träger

- Mischungs-Variante a:

1,2 Tl ERr 731® werden anteilig mit Avicel® in der Kugelmühle verrieben, anschließend wird nach Zugabe der übrigen Hilfsstoffe wie unten beschrieben gemischt und tablettiert.

- Mischungs-Variante b:

ERr 731® (1g/l Lösungsmittel) wird in einem geeigneten Lösungsmittel (z.B. Ethanol/Wassergemisch 86% v/v Ethanol) gelöst und auf Avicel® aufgezogen, getrocknet (bei 40°C mindestens 48 Stunden) und nach Zugabe der übrigen Hilfsstoffe wie unten beschrieben gemischt und tablettiert.

- Mischungs-Variante c:

Die gesamte Avicel®-Menge wird in drei gleiche Portionen aufgeteilt. Die erste Portion wird mit der Gesamtmenge ERr731® versetzt und in einer Laborkugelmühle (z.B. Typ

1-25 LK, Alpine, Augsburg) mindestens für 120 Minuten verrieben. Dann gibt man die zweite Portion Avicel® hinzu, verreibt erneut mindestens 120 Minuten in der Laborkugelmühle. Nach Zugabe der dritten Portion Avicel® wird nochmals kurz vermischt. Anschließend wird nach Zugabe der übrigen Hilfsstoffe wie unten beschrieben gemischt und tablettiert.

Mit dieser Mischungsvariante gelingt es überraschenderweise, die Entmischungsneigung deutlich zu verringern und selbst bei kleinen Dosiseinheiten einen äußerst gleichförmigen Wirkstoffgehalt von nicht mehr als ± 5 Gew.-% (bestimmt nach Ph. Eur. 5. Ausgabe 2005 (5.0/2.09.06.00)) einzustellen.

c) Tablettierung:

Die Mischung aus Avicel® und Wirkstoff wird durch eine Siebmaschine (Siebdurchmesser 1.2 mm) in einen geeigneten Mischbehälter gesiebt und nach Zugabe der angegebenen Tablettierungshilfsmittel (ohne Magnesiumstearat) in einem geeigneten Mischer (z.B. Rhönrad-Mischer Typ Standard RR M 200, Firma Engelsmann AG/Ludwigshafen) mind. 30 min gemischt. Nach Zugabe von Magnesiumstearat wird nochmals mind. 5 min gemischt.

Die Verpressung erfolgt auf einer geeigneten Tablettenpresse (z.B. Rundläufer Typ Perfecta Fette 2000, Fa. Fette/Schwarzenbeck):

Kerngewicht: 84 mg ± 4.2 mg maximale Abweichung

Stempel: 7 mm Durchmesser, drageegewölbt

Der ERr-731-Gehalt je Kern beträgt etwa 4 mg ± 5%.

2. Herstellung der magensaftresistenten überzogenen Tablette

Nach dem Entstauben der Tablettenkerne mit Eudragit wird ein magensaftresistenter Überzug aus Celluloseacetatphthalat und Diethylphthalat, gelöst in Isopropanol und Ethylacetat, auf die Tablettenkerne mit Hilfe einer Coatinganlage aufgebracht.

Macrogol wird in gereinigtem Wasser gelöst. Die Bestandteile Zucker (Saccharose oder Isomalt), Calciumcarbonat, Talkum, Titaniumdioxid und die beiden Povidone wer-

den gemischt und in die Flüssigkeit eingerührt. Die Suspension wird 20 Minuten im Leitstrahlmischer (z.B. Rototron Typ RTA 70-50) gerührt.

Die Dragiersuspension wird mit Hilfe eines Dragierautomaten auf die isolierten Kerne aufgebracht. Der Vorgang wird so lange wiederholt, bis ein durchschnittliches Gewicht von 150 mg pro aufdragiertem Kern erreicht ist. Schließlich trägt man das Polierwachs auf und anschließend lässt man bis zum Hochglanz rollieren.

Endgewicht der magensaftresistenten überzogenen Tablette:
150 mg ± 7.5 mg maximale Abweichung.

Auf diese Weise werden zwei verschieden Tablettenformen – eine zuckerhaltige und eine zuckerfreie – hergestellt, wobei die jeweiligen Hilfsstoffen in den im Folgenden angegebenen Gewichtsteilen eingesetzt wurden.

a) Magensaftresistente überzogene Minitablette – zuckerhaltig – mit Weichmacher im Coating

Hilfstoffe:

Coating:	Eudragit L12,5%Trockensubstanz	1,350 kg	(± 40 %)
	Diethylphthalat	1,749 kg	"
	Celluloseacetatphthalat	7,770 kg	"
	Isopropylalkohol	75,600 kg	"
	Ethylacetat	77,600 kg	"
	Talkum	2,000 kg	"
Dragierung:	Talkum	7,182 kg	"
	Zucker	28,747 kg	"
	Calciumcarbonat	6,410 kg	"
	Titandioxid E 171	0,635 kg	"
	Povidon (K-Wert ca. 25, z.B. Kollidon® 25)	0,756 kg	"
	Povidon (K-Wert: ca. 90)	0,332 kg	"
	Macrogol 35.000	0,635 kg	"
	Wasser	10,500 kg	"

Politur:	95 % Carnaubawachs, 5 % Gebleichtes Wachs (z.B. Capol 1295 PH)	0,108 kg	"

b) Magensaftresistente überzogene Minitablette – zuckerfrei – mit Weichmacher im Coating

Hilfstoffe:

Coating:	Eudragit L12,5% Trockensubstanz	1,350 kg	(± 40 %)
	Diethylphthalat	1,749 kg	"
	Celluloseacetatphthalat	7,770 kg	"
	Isopropylalkohol	75,600 kg	"
	Ethylacetat	77,600 kg	"
Dragierung:	Talkum	7,482 kg	"
	Sorbit und/oder Isomalt	28,747 kg	"
	Calciumcarbonat	6,410 kg	"
	Titandioxid E 171	0,635 kg	"
	Povidon (K-Wert ca. 25, z.B. Kollidon® 25)	0,756 kg	"
	Povidon (K-Wert: ca. 90)	0,332 kg	"
	Macrogol 35.000	0,635 kg	"
	Wasser	10,500 kg	"
Politur:	95 % Carnaubawachs, 5 % Gebleichtes Wachs (z.B. Capol 1295 PH)	0,108 kg	"

Formulierungsbeispiel 2: Herstellung einer festen Dosierungsform – Minitablette zuckerhaltig ohne Weichmacher

a) Herstellung des Tablettenkerns

Die Herstellung erfolgt analog Formulierungsbeispiel 1.

a) Herstellung der magensaftresistenten überzogenen Tablette

Die Herstellung erfolgt analog Formulierungsbeispiel 1, wobei jedoch anstelle von Cellulsoeacetatphthalat /Diethylphthalat (Weichmacher) Schellack (Variante A) oder Aqoat (Variante B) verwendet wird.

a) Variante A

Hilfsstoffe:		kg (± 40 %)
Coating:	Eudragit L12,5% Trockensubstanz	0,400
	CAPOL 5270 PH 8% (Schellacklösung) = 4,8 kg Trockensubstanz (Schellack)	60,000
	Isopropylalkohol	4,000
	Ethanol 96%	3,200
	Talkum	..2,000
Dragierung:	Talkum	7,182
	Zucker	28,747
	Calciumcarbonat	6,410
	Titandioxid E 171	0,635
	Polyvidon (K-Wert ca. 25, z.B. Kollidon® 25)	0,756
	Povidon (K-Wert: ca. 90)	0,332
	Macrogol 35.000	0,635
	Wasser	10,500
Politur:	95 % Carnaubawachs 5 % Gebleichtes Wachs (z.B. Capol 1295 PH)	0,108

a) Variante B

Hilfsstoffe:		kg (± 40 %)
Coating:	Eudragit L12,5% Trockensubstanz Aqoat	0,400

	Hydroxypropylmethylcellulose-acetatsuccinat	5,420
	Aqua dest.	12,500
	Isopropylalkohol	4,000
	Ethanol 86%	55,000
Dragierung:	Talkum	9,182
	Zucker	28,747
	Calciumcarbonat	6,410
	Titanoxid E 171	0,635
	Polyvidon (K-Wert ca. 25, z.B. Kollidon® 25)	0,756
	Povidon (K-Wert: ca. 90)	0,332
	Macrogol 35.000	0,635
	Wasser	10,500
Politur:	95 % Carnaubawachs 5 % Gebleichtes Wachs (z.B. Capol 1295 PH)	0,108

Formulierungsbeispiel 3: Herstellung einer festen Dosierungsform – Minitablette zuckerfrei ohne Weichmacher

a) Herstellung des Tablettenkerns

Die Herstellung erfolgt analog Formulierungsbeispiel 1, wobei jedoch anstelle von Avicel Isomalt verwendet wurde.

a) Herstellung der magensaftresistenten überzogenen Tablette

Die Herstellung erfolgt analog Formulierungsbeispiel 2, wobei jedoch anstelle von Zucker Isomalt verwendet wurde.

a) Variante A

Hilfsstoffe:		kg (± 40 %)
Coating:	Eudragit L12,5% Trockensubstanz	0,400
	CAPOL 5270 PH 8%	

	(Schellacklösung)	60,000
	= 4,8 kg Trockensubstanz	
	(Schellack)	
	Isopropylalkohol	4,000
	Ethanol 96%	3,200
	Talkum	2,000
Dragierung:	Talkum	7,182
	Isomalt	28,747
	Calciumcarbonat	6,410
	Titanoxid E 171	0,635
	Polyvidon	
	(K-Wert ca. 25, z.B. Kollidon® 25)	0,756
	Povidon (K-Wert: ca. 90)	0,332
	Macrogol 35.000	0,635
	Wasser	10,500
Politur:	95 % Carnaubawachs	
	5 % Gebleichtes Wachs	
	(z.B. Capol 1295 PH)	0,108

b) Variante B

Hilfsstoffe:		kg (± 40 %)
Coating:	Eudragit L12,5% Trockensubstanz	0,400
	Aqoat	5,420
	Aqua dest.	12,500
	Isopropylalkohol	4,000
	Ethanol 86%	55,000
	Talkum	..2,000
Dragierung:	Talkum	7,182
	Isomalt	28,747
	Calciumcarbonat	6,410
	Titanoxid E 171	0,635
	Polyvidon	
	(K-Wert ca. 25, z.B. Kollidon® 25)	0,756
	Povidon (K-Wert: ca. 90)	0,332
	Macrogol 35.000	0,635
	Wasser	10,500

Politur:	95 % Carnaubawachs 5 % Gebleichtes Wachs (z.B. Capol 1295 PH)	0,108

Formulierungsbeispiel 4: Herstellung einer halbfesten Dosierungsform – Vaginalgel

Die Herstellung erfolgt unter Anwendung üblicher Methoden nach nach den beiden folgenden Varianten:

a) Variante A:

Hydroxypropylmethylcellulose (Hypromellose USP) oder ein anderer Gelbildner wird mit 2 – 10 Gew.-% in gereinigtem Wasser quellen gelassen. Anschließend wird das in Glycerin gelöste ERr 731® (Herstellungsbeispiel 1) eingearbeitet. Die Glycerinmenge kann bis zu 50 Gew.-% des Gels betragen. ERr 731® kann in Glycerin bis zu 0,5 Gew.-% gelöst werden. Im Bedarfsfall können dem Gel Konservierungsstoffe (z. B. Sorbinsäure und ihre Salze) hinzugegeben werden. Auch eine pH-Einstellung ist möglich. Alternativ zu Glycerin kann auch Ethanol 30 – 86 Vol.-% verwendet werden.

b) Variante B:

Carbomer (Carbopol) wird mit 0,5 – 5 Gew.-% in gereinigtem Wasser gelöst und der gewünschte pH-Wert (z. B. KOH, NaOH, NH_3) eingestellt. Wenn notwendig, wird ein Konservierungsmittel (z. B. Sorbinsäure und ihre Salze) beigemischt. Nach Bildung eines klaren Gels wird ERr 731® (Herstellungsbeispiel 1) bis zu 0,5 Gew.-% in Ethanol 30 – 86 Vol.-% gelöst und zugegeben. Alternativ zu Ethanol kann auch Glycerin verwendet werden.

Formulierungsbeispiel 5: Herstellung einer halbfesten Dosierungsform – Vaginalkugeln

Es werden Kugeln mit einer Größe von 1 bis 15 g mit einem Gehalt von 1 bis 12 mg ERr 731® (Herstellungsbeispiel 1) gelöst in Glycerin (85 % n 20/D =1,45085) nach zwei verschiedenen Varianten in herkömmlicher Weise hergestellt.

a) Variante A:

Rezeptur:

Gelatine	1 Teil
Gereinigtes Wasser	2 Teile
Glycerin 85 % (+ERr 731®)	5 Teile

b) Variante B:

Gleiche Rezeptur, jedoch mit geeignetem Konservierungsmittel, wie z. B. Sorbat, Benzoat, PHB-Ester.

Die Gelatine wird jeweils in gereinigtes Wasser eingebracht und quellen gelassen bis alles glasig geworden ist. Anschließend wird Glycerin 85 % mit Wirkstoff dazugegeben und erwärmt, jedoch nicht über 65 °C. Anschließend werden die Globuli in üblicher Weise gegossen

Formulierungsbeispiel 6: Herstellung einer flüssigen Dosierungsform – Tropfen

a) Lösungsversuche mit ERr 731® in Ethanol und Glycerol:

Gehalt des Extrakts:

61,9 % Rhaponticin
29,9 % Desoxyrphaponticin

Versuch A: 200 mg Trockenextrakt in 50 ml Glycerol R:

55,1 % Rhaponticin	(89,0 % der Theorie)
27,1 % Desoxyrhaponticin	(90,6 % der Theorie)

Versuch B: 200 mg Trockenextrakt in 50 ml Ethanol 30 % R:

52,2 % Rhaponticin	(84,3 % der Theorie)
25,2 % Desoxyrhaponticin	(84,2 % der Theorie)

Versuch C: 200 mg Trockenextrakt in 50 ml Ethanol 50 % R:

58,8 % Rhaponticin	(95,0 % der Theorie)

29,0 % Desoxyrhaponticin (97,0 % der Theorie)

Versuch D: 200 mg Trockenextrakt in 50 ml Ethanol 86 % R:

59,8 % Rhaponticin (96,6 % der Theorie)
29,5 % Desoxyrhaponticin (98,7 % der Theorie)

b) Herstellung von Tropfen:

Zur Herstellung von Tropfen wurde Trockenextrakt gemäß Versuch B in Ethanol 30% R gelöst und gegebenenfalls filtriert.

Testbeispiel 1: In vivo- Metabolisierung des Trockenextrakts ERr 731®

Zur weiteren Aufklärung der Wirkungsweise wurde ERr 731® 3 männlichen und 3 weiblichen Hunden (reinrassige Beagles, Gewicht 6-9 kg, Alter 6-8 Monate) in einer Dosis von 100 mg ERr 731®/kg Körpergewicht oral per Kapsel verabreicht. In verschiedenen Zeitintervallen wurde den Tieren Blut entnommen und Blutplasma gewonnen. Das Plasma wurde auf ERr 731®-Inhaltsstoffe und -Metabolite untersucht. Überraschenderweise konnten sowohl in männlichen als auch in weiblichen Tieren signifikante Mengen des Metaboliten Piceatannol und geringe Mengen des Metaboliten Resveratrol nachgewiesen werden. Maximale Plasmaspiegel dieser Metabolite wurden nach etwa 24 h erreicht. Die Plasmaspiegel für Piceatannol lagen deutlich über denen von Resveratrol. Die Versuchsergebnisse zum Zeitpunkt 24 h sind in Figur 1 dargestellt.

Testbeispiel 2: Untersuchung der Aktivierung des Östrogenrezeptors ERα durch ERr 731® und dessen Inhaltsstoffe bzw. Metabolite

Es sollte die Frage geklärt werden, ob ERr 731® den ERα aktiviert. Deshalb wurde der Extrakt ERr 731® und dessen Inhaltsstoffe bzw. Metabolite (trans-Rhapontigenin, Desoxyrhapontigenin, Resveratrol, Piceatannol sowie cis-Rhapontigenin) im Vergleich mit 17β-Östradiol auf die östrogene Aktivität in etablierten Modellsystemen untersucht.

Test A):

In einer ersten Serie von Experimenten wurde ein rekombinanter Hefe-Screen verwendet (vgl. E. Routledge and J.P. Sumpter, Östrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen, Envirom. Tox. Chem.1996).

Saccharomyces-cerevisiae-Zellen wurden mit humanem ERα sowie mit einem Reporter-Gen, bestehend aus dem jeweiligen responsiven Promotorelement fusioniert mit dem LacZ-Gen, welches für ß-Galaktosidase kodiert, stabil transfiziert. Durch Östrogenbehandlung (mit Östrogen oder einem östrogenähnlich wirkenden Substrat) der Zellen wird, vermittelt durch den Östrogenrezeptor, ß-Galaktosidase aktiviert, was zu einer Rotfärbung der Hefezellen führt, welche bei 565 nm gemessen werden kann.

Die Versuchsergebnisse sind in Figur 2 zusammengefasst.

Test B):

In einer zweiten Serie von Experimenten wurden die Daten der Östrogenizitätsmessung durch Bestimmung der Induktion von alkalischer Phosphatase in Ishikawa-Zellen (menschliche endometriale Adenokarzinomzellen) verifiziert, welche mit einem ERα -enthaltenden Reportergenkonstrukt transfiziert worden waren. Die Aktivität von alkalischer Phosphatase, welche über das chromogene Substrat 4-Nitrophenylphosphat bewertet wird, stellt eine ERα-vermittelte Antwort dar.

Der Test basiert auf der Beschreibung von Holinka CF, Hata H, Kuramoto H, Gurpide E (1986) Effects of steroid hormones and antisteroids on alkaline phosphatase activity in human endometrial cancer cells (Ishikawa Line). Cancer Res. 46: 2771-2774, sowie Modifikationen gemäß Wober J, Weißwange I, Vollmer G (2002) Stimulation of alkaline phosphatase activity in Ishikawa cells induced by various phytoestrogens and synthetic estrogens. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 83:227-233.

Tabelle 2 stellt die Konzentrationen für die positive Kontrolle (17β-Östradiol) und die Testsubstanzen dar, welche in dem Assay verwendet wurden.

Tabelle 2

Testsubstanz	Konzentration (M)[1]
Östradiol	10^{-6}
Resveratrol	10^{-8}–10^{-5}
trans-Rhapontigenin	10^{-8}–10^{-5}
Desoxyrhapontigenin	10^{-8}–10^{-5}
Piceatannol	10^{-7}–10^{-5}
cis-Rhapontigenin	10^{-8}–10^{-5}
Extrakt ERr 731®	0,00001–10

[1] Ausnahme: Die Konzentration für den Extrakt ERr 731 ist in µg/ml angegeben

Die Ergebnisse zu Test B) sind in Figur 3 dargestellt.

Beide Tests sind stichhaltig, da sämtliche positive und negative Kontrollen ihre vorausgesagten Effekte (vgl. Figuren 2 und 3) zeigen. Die Ergebnisse beider oben beschriebener Testsysteme belegen, dass weder ERr 731® noch dessen Inhaltsstoffe und Metabolite einen signifikanten Einfluss auf die Aktivierung von ERα aufweisen (vgl. Figuren 2 und 3). Somit kann angenommen werden, dass die Aktivität von ERr 731® auf einem von ERα unabhängigen molekularen Mechanismus basiert.

Testbeispiel 3: Pharmakokinetik von ERr 731® Inhaltsstoffen bei weiblichen Probanden

Nach oraler Einnahme von ERr 731® sollte überprüft werden, ob sich einer der Inhaltsstoffe dieser Wirkstoffkombination im Blut wieder finden lässt, um zu beweisen, dass mindestens einer der Bestandteile dieser Wirkstoffkombination oder dessen Metabolite bioverfügbar ist.

Von einer Freiwilligen wurden morgens (8.00 Uhr) 10 Tabletten ERr 731® (Dosierung = 40 mg ERr 731®) mit Flüssigkeit eingenommen. Anschließend wurde zu verschiedenen Zeitpunkten (wie in Figur 4 angegeben) 10 ml Blut abgenommen und durch Abzentrifugieren das Plasma gewonnen.

Diese Plasmaproben wurden wie folgt aufgearbeitet: 500 µl Plasma wurden mit 25 µl einer internen Standardarbeitslösung (2.5 ng/µl Rhaponticin oder Rhapontigenin in Methanol) versetzt und mit 500 µl isotonischer NaCl-Lösung und 2.5 ml Diethylether/Butanol (9/1; v/v) gemischt. Nach Schütteln und Zentrifugieren (10 Minuten bei 4600 rpm), wurden ca. 2 ml des Überstandes abgenommen und unter Stickstoffbegasung (bei 60°C) getrocknet. Das Pellet wurde in 50 µl Methanol aufgenommen. Nach Zugabe von 200 µl destilliertem Wasser wurde erneut gemischt, und 200 µl wurden in Autosampler Röhrchen pipettiert (lichtgeschützt). 30 µl der Proben wurden in ein LC-MS/MS System (PE Sciex API 3000) zur Analyse injiziert. Die chromatographische Trennung der Analyte erfolgte auf einer Phenomenex Polymer X Säule mit einem Gradienten aus einer Ammoniumpufferlösung und einem Acetonitril/Methanol-Gemisch als mobile Phase.

Die Analysenergebnisse sind in Figur 4 zusammengefasst. Es wurde Rhaponticin im Blut detektiert mit einem Maximum bei 3-4 Stunden (Figur 4), während Rhapontigenin nicht gefunden werden konnte. Da Rhaponticin einer der Hauptinhaltsstoffe von ERr 731® ist, ist davon auszugehen, dass Rhaponticin ein wirksamkeitsmitbestimmender Inhaltsstoff von ERr 731® ist. Dies ist um so überraschender, als bisher davon ausgegangen wurde, dass nur die Aglycone, nicht jedoch die glycosylierten Hydroxystilbene wirksam sind (Park et al., Arch Pharm Res. 2002;25:528-533).

Testbeispiel 4: Östrogenrezeptor ß (ERß)-Aktivierung durch ERr 731® und seinen Metaboliten in der ERß-exprimierenden endometrialen Adenokarzinomzelllinie HEC-1B

HEC-1B Zellen, eine humane endometriale Adenokarzinom-Zelllinie, exprimieren weder ERα noch ERß. Damit stellen sie eine Möglichkeit dar, in einem humanen und endometrialen Kontext Liganden-abhängige Effekte von Substanzen auf die Transaktivierungsmechanismen hinsichtlich verschiedener Rezeptor-Subtypen und verschiedener östrogenresponsiver Promotoren zu untersuchen.

Eingesetzt wurde ein etabliertes ERß/mC3-Luciferase-System. Dazu wurden HEC-1B Zellen in 24-Well-Platten mit einer Dichte von 95.000 Zellen/Well ausgebracht (in Dulbecco's modified Essential Medium (DMEM/F12)). Am nächsten Tag wurden diese mit

einem ERß-enthaltenden Konstrukt (hERβ/pSG2) und einem triple-ERE-enthaltenden Promotor/Luciferase Konstrukt (mC3-Luc/pGL2) kotransfiziert (Hillisch et al. Dissecting physiological roles of estrogen receptor alpha and beta with potent selective ligands from structure-based design. Mol Endocrinol. 2004 Jul; 18:1599-609). Die transiente Transfektion erfolgte mittels DOTAP (N-[1-(2,3-Dioleoyloxy)]-N,N,N-trimethyl-ammonium-propan methyl-sulfat; Roth) wie vom Hersteller beschrieben.

Nach 24 Stunden wurden die Zellen mit entsprechenden Konzentrationen der zu untersuchenden Substanzen bzw. Substanzgemische behandelt. Als Positivkontrolle diente 17β-Östradiol (E2; 10 nM), als Lösungsmittelkontrolle wurde ein vergleichbares Volumen Dimethylsulfoxid (DMSO) eingesetzt. Die Inkubationszeit betrug 24 Stunden. Danach wurden die Zellen lysiert. Einerseits wurde mittels des Luciferase Assay® Kits (Promega) die Luciferaseaktivität und andererseits mittels des BCA® Kits (Sigma) der Proteingehalt bestimmt. Die resultierenden spezifischen Luciferase-Aktivitäten der zu untersuchenden Substanzen wurden dann gegen die DMSO-Kontrolle (100%) verglichen.

Für jede Prüfsubstanz werden mindestens drei Transfektionsexperimente durchgeführt. Nach Berechnung der relativen Luciferase-Aktivität in Bezug auf die Negativkontrolle (DMSO) jedes Einzelexperiments (gesetzt als 100%) werden die entsprechenden Mittelwerte und Standardabweichungen gebildet. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt grafisch in Form eines Säulendiagramms. Die Berechnung der Signifikanz erfolgt mittels Student's t-test, wobei diese wie folgt festgelegt wurde: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Die Ergebnisse für ERr 731® sind in Figur 5a, für trans-Rhapontigenin in Figur 5b und für Desoxyrhapontigenin in Figur 5c dargestellt. Sie zeigen, dass die Substanzen dosis-abhängig den ERß aktivieren und damit erfindungsgemäß eingesetzt werden können.

Die oben beschriebenen Versuchsergebnisse belegen den überraschenden Befund, dass, entgegen bisheriger Annahmen, die „Vorläufer" von Resveratrol und Piceatannol, d. h. die Glycoside Rhaponticin und Desoxyrhaponticin (als Hauptbestandteile von ERr 731®), per se von menschlichen Zellen aufgenommen werden können. Die Fachwelt ist bisher von einer Nichtresorbierbarkeit dieser Glycoside ausgegangen (vgl. Park et

al, Arch. Pharm. Res. 2002, 25 (4), 528-533). Weiterhin überrascht die Tatsache, dass die Wirkstoffkombination ERr 731® höhere Wirksamkeit besitzt als die korrespondierenden Aglycone Rhapontigenin und Desoxyrhapontigenin. Zudem sind letztere unter physiologischen Bedingungen nicht nachweisbar (Versuche nicht gezeigt).

Damit konnte durch vorliegende Erfindung die direkte pharmakologische Wirksamkeit der Glycoside Rhaponticin und Desoxyrhaponticin (als Hauptbestandteile von ERr 731®) erstmalig gezeigt werden.

Patentansprüche

1. Feste Dosierungsform, umfassend einen wirkstoffhaltigen festen Kern mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger und einem Wirkstoffgehalt von etwa 1 bis 20 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des Kerns, wobei der Wirkstoff einen Hydroxystilben-haltigen Wirkstoff oder eine Hydroxystilben-haltige Wirkstoffkombination umfasst, ausgewählt unter Resveratrol- und Piceatannol-Vorläufern; sowie Resveratrol und Piceatannol; sowie deren stereoisomeren Formen und funktionellen Derivaten, jeweils in Form ihrer Salze oder in der Phenolform.

2. Feste Dosierungsform nach Anspruch 1, wobei der Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination erhältlich ist aus Wurzeln von Rheum rhaponticum.

3. Feste Dosierungsform nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Wirkstoffkombination im wesentlichen Rhaponticin und Desoxyrhaponticin in einem Gewichtsverhältnis von etwa 2:1 bis 1:2 umfasst.

4. Feste Dosierungsform nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Wirkstoffkombination im wesentlichen aus etwa
60-66 Gew.-% Rhaponticin
30-35 Gew.-% Desoxyrhaponticin
0-2 Gew.-% Rhapontigenin; und
0-2 Gew.-% Desoxyrhapontigenin
besteht.

5. Feste Dosierungsform nach einem der vorhergehenden Ansprüche, mit einem Gesamt-Wirkstoffgehalt von etwa 2 bis 20 mg je Dosiseinheit.

6. Feste Dosierungsform nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei diese einen Lactose-freien Kern aufweist.

7. Feste Dosierungsform nach einem der vorhergehenden Ansprüche in Form einer Pille, einer Tablette, eines Extrudats oder eines Granulat.

8. Feste Dosierungsform nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei diese einen magensaftresistenten Überzug aufweist.

9. Feste Dosierungsform nach Anspruch 8, wobei der Überzug im Wesentlichen keinen Weichmacher enthält.

10. Feste Dosierungsform nach einem der vorhergehenden Ansprüche mit einem Gesamtgewicht im Bereich von etwa 150 mg ± 20 mg, einem Kerngewicht von 84 mg ± 10 mg und einem Wirkstoffgehalt von etwa 3 bis 10 mg je Dosiseinheit.

11. Feste Dosierungsform nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei diese eine Gleichförmigkeit des Wirkstoffgehalts (gemittelt über 10 oder 20 zufällig ausgewählte einzelne Dosiseinheiten) von maximal ± 5 Gew.-% bezogen auf das Gesamtgewicht der Dosiseinheit aufweist.

12. Verfahren zur Herstellung einer festen Dosierungsform nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei man
    a) den Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination mit dem pharmazeutisch verträglichen Träger mischt; und
    b) die Mischung zum Wirkstoffkern verfestigt.

13. Verfahren nach Anspruch 12, wobei man den Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination in einer inerten Flüssigkeit löst oder dispergiert und mit dem Träger mischt und das Lösungsmittel während oder nach der Verfestigung entfernt.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 und 13, wobei man den Wirkstoff oder die Wirkstoffkombination dadurch herstellt, dass man
    a) einen Wirkstoff-haltigen Teil einer Drogenpflanze, gegebenenfalls in zerkleinerter Form, bereitstellt,
    b) diesen mit einem wässrigen Extraktionsmittel versetzt,
    c) nach Einwirken des Extraktionsmittels eine Flüssigextraktphase aus der Mischung gewinnt und die Extraktion gegebenenfalls mehrfach wiederholt, und
    d) das Extraktionsmittel aus den so erhaltenen Flüssigextraktphasen entfernt.

15. Verfahren nach Anspruch 14, wobei man eine Extraktion mit einem wässrigen Extraktionsmittel bei einem pH-Wert der Mischung im alkalischen Bereich durchführt.

16. Verfahren nach Anspruch 14 oder 15, wobei die Drogenpflanze unter Pflanzen der Gattung Rheum spp, Astragalus spp,Cassia spp oder Picea spp ausgewählt ist.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 16, wobei man die Gesamtmenge des Wirkstoffs oder der Wirkstoffkombination portionsweise mit dem pharmazeutisch verträglichen Träger versetzt und nach jeder Trägerzugabe mischt.

18. Verfahren nach Anspruch 17, wobei nach jeder Zugabe mit einer Kugelmühle über eine Dauer von 30 Minuten bis 3 Stunden gemischt wird.

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 18, wobei man den Wirkstoffkern mit einem magensaftresistenten Überzug versieht

20. Verfahren nach Anspruch 19, wobei der Überzug im Wesentlichen keinen Weichmacher enthält.

21. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 20, wobei man den Kern dragiert.

22. Flüssige Dosierungsform, enthaltend einen Wirkstoff oder eine Wirkstoffkombination gemäß der Definition in einem der Ansprüche 1 bis 4 in einem Anteil von etwa 0,1 bis 20 mg/ml in einem Lösungsmittelgemisch, umfassend Wasser und einen pharmazeutisch verträglichen Alkohol.

23. Flüssige Dosierungsform nach Anspruch 22, wobei das Lösungsmittelgemisch ein Wasser/Ethanolgemisch mit einem Ethanolanteil von 10 bis 50 Vol.-% ist.

24. Flüssige Dosierungsform nach einem der Ansprüche 22 und 23, formuliert als Tropfen zur oralen Verabreichung.

25. Halbfeste Dosierungsform, enthaltend einen Wirkstoff oder eine Wirkstoffkombination gemäß der Definition in einem der Ansprüche 1 bis 4 in einem Anteil von etwa 1 bis 12 Gew.-% in einem üblichen halbfesten Träger.

26. Halbfeste Dosierungsform, formuliert als Vaginalgel oder Vaginalkugeln.

27. Verfahren zur Herstellung einer halbfesten oder flüssigen Dosierungsform nach einem der Ansprüche 22 bis 26, wobei man einen Wirkstoff oder eine Wirkstoffkombination wie in Anspruch 14 definiert herstellt und in an sich bekannter Weise zur Dosierungsform formuliert.

28. Pharmazeutisches Mittel, umfassend eine feste Dosierungsform nach einem der Ansprüche 1 bis 11 oder hergestellt nach einem der Ansprüche 12 bis 21 oder eine flüssige oder halbfeste Dosierungsform nach einem der Ansprüche 22 bis 26 oder hergestellt nach Anspruch 27.

29. Feste Dosierungsform nach einem der Ansprüche 1 bis 11 oder hergestellt nach einem der Ansprüche 12 bis 21 oder eine flüssige oder halbfeste Dosierungsform nach einem der Ansprüche 22 bis 26 oder hergestellt nach Anspruch 27 zur Behandlung von klimakterischen Beschwerden der Frau, juveniler Oligomenorrhoe und Dysmenorrhoe, primärer und sekundärer Amenorrhoe oder Endometritis.

30. Verwendung einer festen Dosierungsform nach einem der Ansprüche 1 bis 11 oder hergestellt nach einem der Ansprüche 12 bis 21 oder eine flüssige oder halbfeste Dosierungsform nach einem der Ansprüche 22 bis 26 oder hergestellt nach Anspruch 27 zur Herstellung eines pharmazeutischen Mittels zur Behandlung von klimakterischen Beschwerden der Frau, juveniler Oligomenorrhoe und Dysmenorrhoe, primärer und sekundärer Amenorrhoe oder Endometritis.

31. Dosierungsform oder Verwendung nach einem der Ansprüche 29 und 30, zur Behandlung von klimakterischen Beschwerden in der Peri- oder Postmenopause.

32. Dosierungsform oder Verwendung nach einem der Ansprüche 29 und 30, zur Behandlung von Hitzewallungen, Schweißausbrüchen, Schlafstörungen, Reizbarkeit, physischer und mentaler Erschöpfung, Sexualproblemen und Harntraktbeschwerden.

33. Dosierungsform oder Verwendung nach einem der Ansprüche 29 und 30, zur Behandlung von klimakterischen Beschwerden aufgrund natürlicher oder therapeutisch verursachter Menopause.

34. Verwendung eines Wirkstoffs oder einer Wirkstoffkombination nach obiger Definition zur selektiven Aktivierung von ERß in vivo oder in vitro.

35. Verwendung eines Wirkstoffs oder einer Wirkstoffkombination nach obiger Definition zur Behandlung einer in einem der Ansprüche 30 bis 33 definierten Erkrankung durch selektive Aktivierung von ERß.

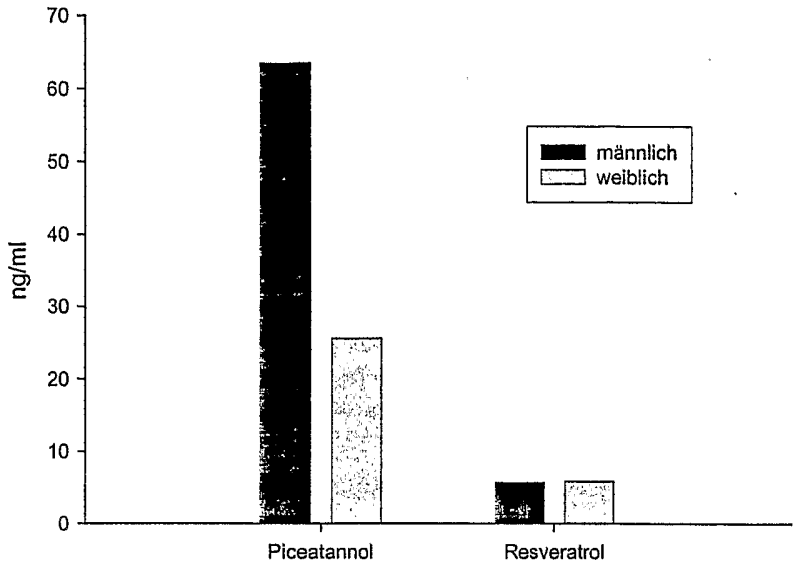

70
60
50
40
30
20
10
0
ng/ml
männlich
weiblich
Piceatannol
Resveratrol

Fig. 1

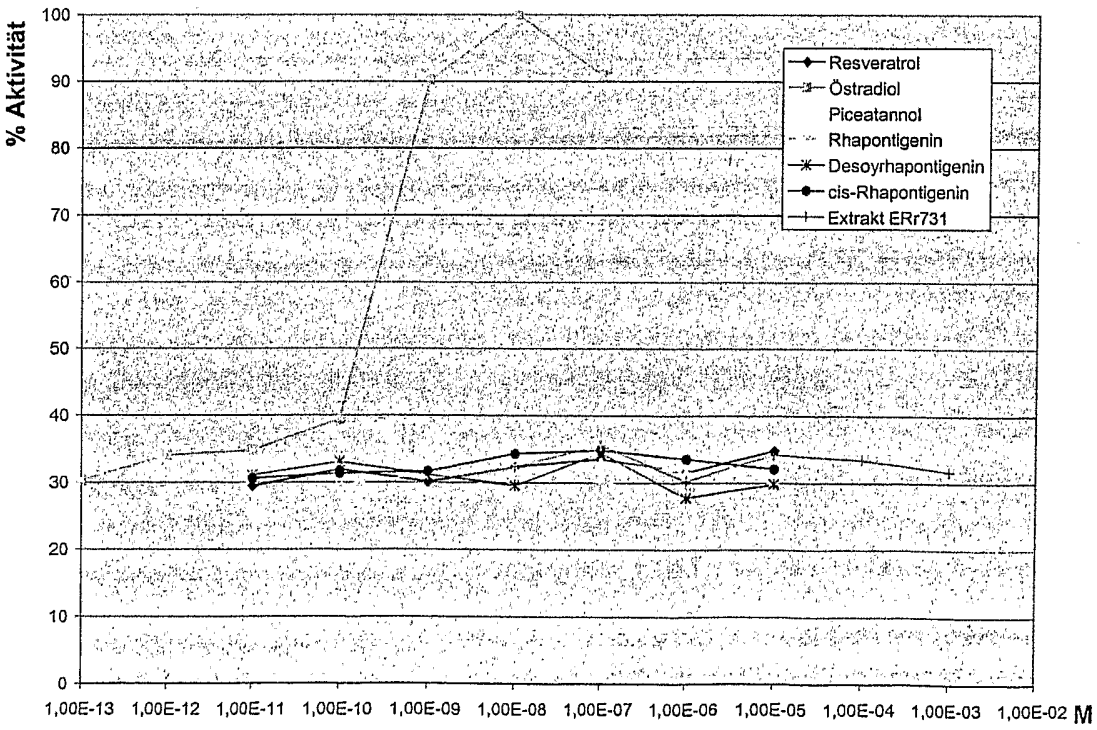

% Aktivität
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
Resveratrol
Östradiol
Piceatannol
Rhapontigenin
Desoyrhapontigenin
cis-Rhapontigenin
Extrakt ERr731
1,00E-13
1,00E-12
1,00E-11
1,00E-10
1,00E-09
1,00E-08
1,00E-07
1,00E-06
1,00E-05
1,00E-04
1,00E-03
1,00E-02
M

Fig. 2

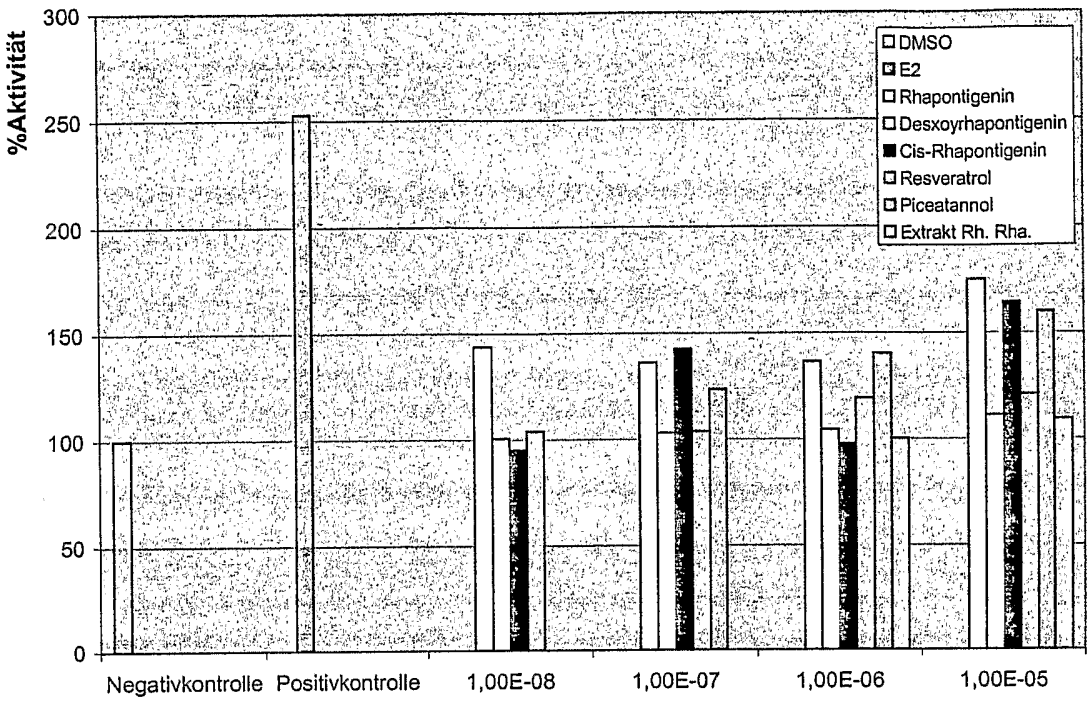

%Aktivität
300
250
200
150
100
50
0
DMSO
E2
Rhapontigenin
Desxoyrhapontigenin
Cis-Rhapontigenin
Resveratrol
Piceatannol
Extrakt Rh. Rha.
Negativkontrolle
Positivkontrolle
1,00E-08
1,00E-07
1,00E-06
1,00E-05

Fig. 3

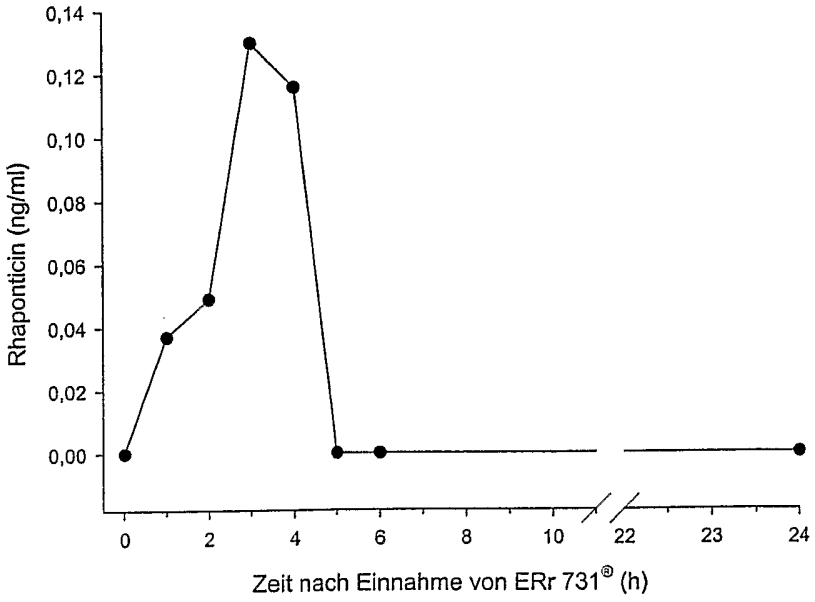

Rhaponticin (ng/ml)
0,14
0,12
0,10
0,08
0,06
0,04
0,02
0,00
0
2
4
6
8
10
22
23
24
Zeit nach Einnahme von ERr 731® (h)

Fig. 4

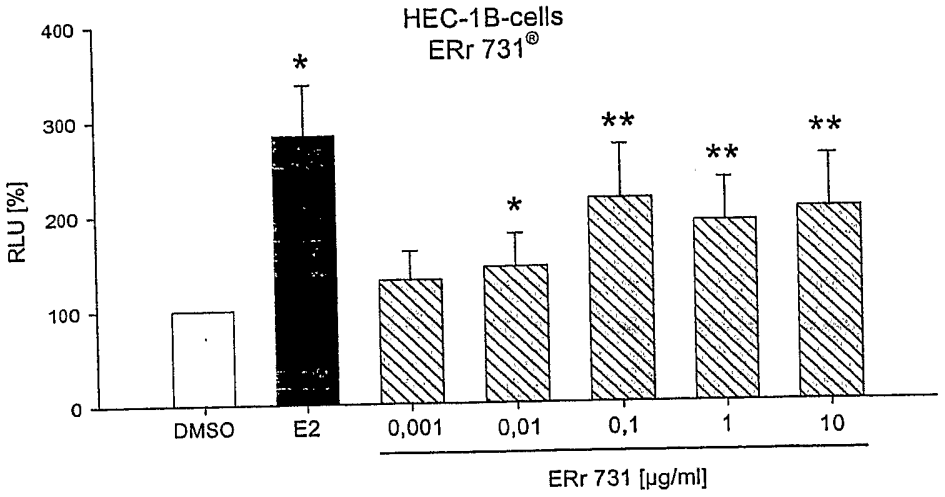

HEC-1B-cells
ERr 731®
RLU [%]
400
300
200
100
0
*
*
**
**
**
DMSO
E2
0,001
0,01
0,1
1
10
ERr 731 [µg/ml]

Fig. 5a

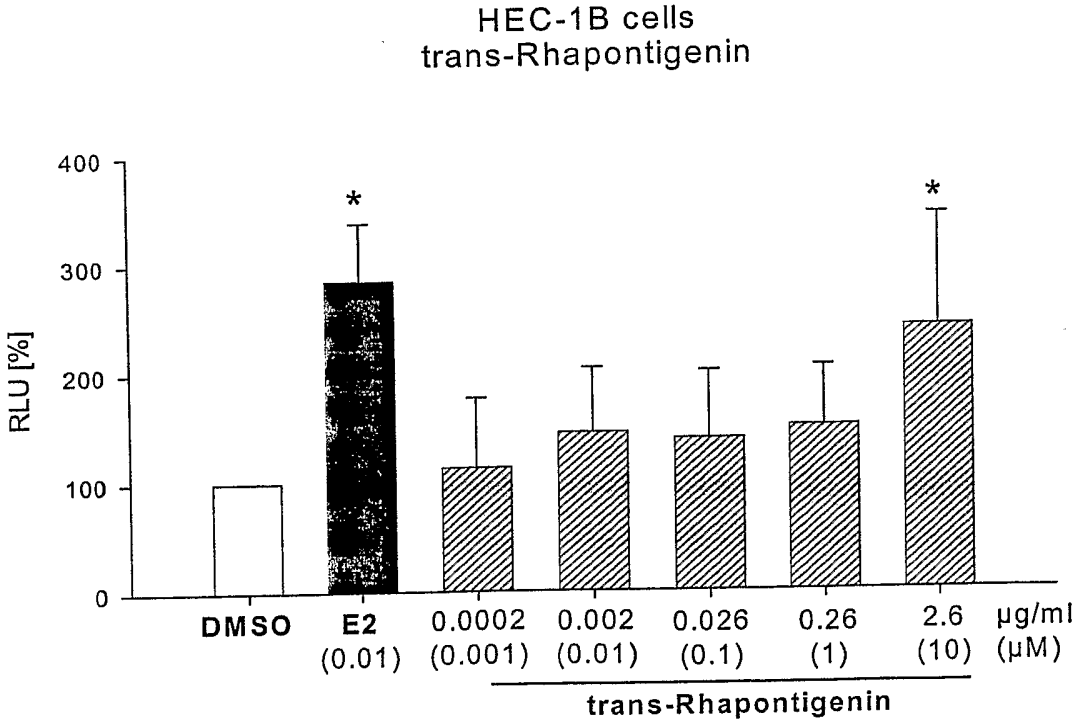

HEC-1B cells
trans-Rhapontigenin
RLU [%]
400
300
200
100
0
*
*
DMSO
E2
(0.01)
0.0002
(0.001)
0.002
(0.01)
0.026
(0.1)
0.26
(1)
2.6
(10)
µg/ml
(µM)
trans-Rhapontigenin

Fig. 5b

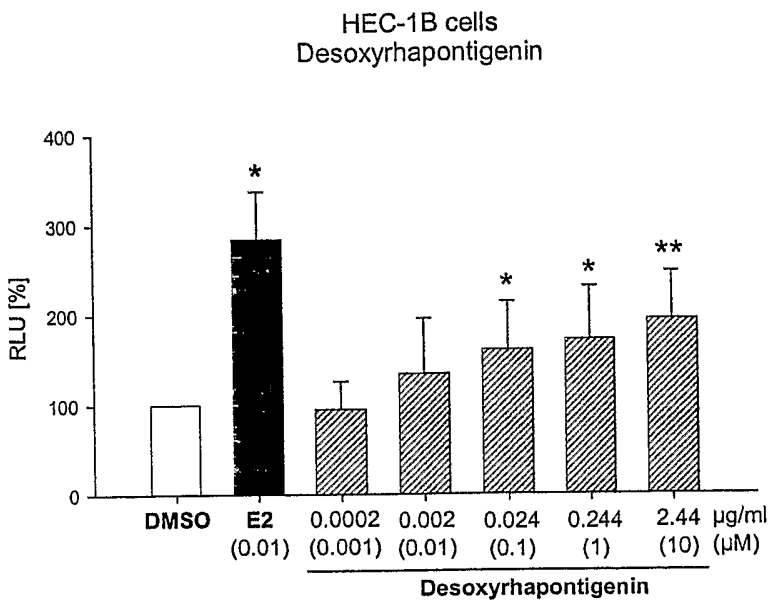

HEC-1B cells
Desoxyrhapontigenin
RLU [%]
400
300
200
100
0
*
*
*
**
DMSO
E2 (0.01)
0.0002 (0.001)
0.002 (0.01)
0.024 (0.1)
0.244 (1)
2.44 (10)
µg/ml (µM)
Desoxyrhapontigenin

Fig. 5c

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/000957

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K9/02 A61K9/28 A61K31/085 A61K31/7034 A61K36/481
A61K36/482 A61K36/708 A61P43/00

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)
A61K

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 practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 835 185 A (BERKEM) 1 August 2003 (2003-08-01) cited in the application	25,27-35
Y	page 2, line 16 - page 3, line 8 page 8, line 33 - page 9, line 20 page 10; table 1 Beispiele	1-21,26

X	ANONYM: ""Phytoestrogen hilft bei Beschwerden im Klimakterium" ÄRZTE ZEITUNG, [Online] 16 May 2000 (2000-05-16), XP002378130 Retrieved from the Internet: URL:http://www.aerztezeitung.de/docs/2000/05/16/089a1403.asp?cat=> [retrieved on 2006-04-24]	1-5,7,8, 11,28-35
Y	the whole document	6,9,10

	-/--	

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] 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
5 May 2006	24/05/2006

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Albrecht, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/000957

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ROTE LISTE SERVICE GMBH (ED.): "ROTE LISTE" 2002, EDITIO CANTOR VERLAG , AULENDORF , XP002379296	1-5,7,8, 11,28-35
Y	Eintrag 76001 "Phytoestrol N"	6,9,10
X	WO 00/12534 A (NORTHEASTERN OHIO UNIVERSITIES COLLEGE OF MEDICIN) 9 March 2000 (2000-03-09)	25-29, 31-33
Y	page 5, line 14 - page 7, line 8	1-24
X	WO 01/21165 A (RUTGERS, THE STATE UNIVERSITY; GHAI, GEETA; HO, CHI-TANG; CHEN, HUANG,) 29 March 2001 (2001-03-29)	26-29, 31-33
Y	page 3, line 20 - line 35 page 11, line 29 - line 32	1-24
X	US 2002/173472 A1 (PEZZUTO JOHN M ET AL) 21 November 2002 (2002-11-21)	25, 27-29, 31-33
Y	page 3, paragraph 18 - paragraph 19 page 4, paragraph 41 page 4, paragraph 45 - page 6, paragraph 57 example 1	1-23
X	WO 01/08671 A (THE PROCTER & GAMBLE COMPANY) 8 February 2001 (2001-02-08)	1,2,22, 23,25, 27-29, 31-33
Y	page 6, line 19 - page 7, line 14 page 9, line 12 - page 10, line 13 Beispiele	3-21,24, 26
Y	EP 0 704 208 A (ROEHM GMBH; ROEHM GMBH & CO. KG) 3 April 1996 (1996-04-03) the whole document	9,20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2006/000957

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [X] Claims Nos.: 34, 35
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 34, 35 relate to a method for treatment of the human or animal body the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.

2. [ ] Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2006/000957

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2835185 A	01-08-2003	NONE	
WO 0012534 A	09-03-2000	AU 746756 B2	02-05-2002
		AU 5576099 A	21-03-2000
		CA 2342582 A1	09-03-2000
		US 6197834 B1	06-03-2001
		US 2001020043 A1	06-09-2001
WO 0121165 A	29-03-2001	AU 7596100 A	24-04-2001
US 2002173472 A1	21-11-2002	NONE	
WO 0108671 A	08-02-2001	AU 6240200 A	19-02-2001
		CA 2379703 A1	08-02-2001
		CN 1377262 A	30-10-2002
		EP 1221949 A2	17-07-2002
		JP 2003505500 T	12-02-2003
		TR 200200246 T2	23-09-2002
EP 0704208 A	03-04-1996	AT 260648 T	15-03-2004
		CZ 9502234 A3	13-03-1996
		DE 9414066 U1	03-11-1994
		DK 704208 T3	12-07-2004
		ES 2213153 T3	16-08-2004
		HU 75241 A2	28-05-1997
		IN 188669 A1	26-10-2002
		JP 8081392 A	26-03-1996
		SK 105995 A3	08-01-1997
		US 5644011 A	01-07-1997

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2006/000957

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. A61K9/02 A61K9/28 A61K31/085 A61K31/7034 A61K36/481
A61K36/482 A61K36/708 A61P43/00

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
A61K

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	FR 2 835 185 A (BERKEM) 1. August 2003 (2003-08-01) in der Anmeldung erwähnt	25,27-35
Y	Seite 2, Zeile 16 - Seite 3, Zeile 8 Seite 8, Zeile 33 - Seite 9, Zeile 20 Seite 10; Tabelle 1 Beispiele	1-21,26

X	ANONYM: ""Phytoestrogen hilft bei Beschwerden im Klimakterium" ÄRZTE ZEITUNG, [Online] 16. Mai 2000 (2000-05-16), XP002378130 Gefunden im Internet: URL:http://www.aerztezeitung.de/docs/2000/05/16/089a1403.asp?cat=> [gefunden am 2006-04-24]	1-5,7,8, 11,28-35
Y	das ganze Dokument	6,9,10

	-/--	

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen [X] Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"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 ausgeführt)
"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 veröffentlicht 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 allein aufgrund dieser Veröffentlichung 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 mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
5. Mai 2006	24/05/2006

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Albrecht, S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2006/000957

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	ROTE LISTE SERVICE GMBH (ED.): "ROTE LISTE" 2002, EDITIO CANTOR VERLAG , AULENDORF , XP002379296	1-5,7,8, 11,28-35
Y	Eintrag 76001 "Phytoestrol N"	6,9,10
X	WO 00/12534 A (NORTHEASTERN OHIO UNIVERSITIES COLLEGE OF MEDICIN) 9. März 2000 (2000-03-09)	25-29, 31-33
Y	Seite 5, Zeile 14 - Seite 7, Zeile 8	1-24
X	WO 01/21165 A (RUTGERS, THE STATE UNIVERSITY; GHAI, GEETA; HO, CHI-TANG; CHEN, HUANG,) 29. März 2001 (2001-03-29)	26-29, 31-33
Y	Seite 3, Zeile 20 - Zeile 35 Seite 11, Zeile 29 - Zeile 32	1-24
X	US 2002/173472 A1 (PEZZUTO JOHN M ET AL) 21. November 2002 (2002-11-21)	25, 27-29, 31-33
Y	Seite 3, Absatz 18 - Absatz 19 Seite 4, Absatz 41 Seite 4, Absatz 45 - Seite 6, Absatz 57 Beispiel 1	1-23
X	WO 01/08671 A (THE PROCTER & GAMBLE COMPANY) 8. Februar 2001 (2001-02-08)	1,2,22, 23,25, 27-29, 31-33
Y	Seite 6, Zeile 19 - Seite 7, Zeile 14 Seite 9, Zeile 12 - Seite 10, Zeile 13 Beispiele	3-21,24, 26
Y	EP 0 704 208 A (ROEHM GMBH; ROEHM GMBH & CO. KG) 3. April 1996 (1996-04-03) das ganze Dokument	9,20

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2006/000957

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. [X] Ansprüche Nr. 34, 35
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

Obwohl die Ansprüche 34, 35 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

2. [ ] Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

3. [ ] Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. [ ] Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.

2. [ ] Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.

3. [ ] Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.

4. [ ] Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

[ ] Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.

[ ] Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2006/000957

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
FR 2835185 A	01-08-2003	KEINE		
WO 0012534 A	09-03-2000	AU	746756 B2	02-05-2002
		AU	5576099 A	21-03-2000
		CA	2342582 A1	09-03-2000
		US	6197834 B1	06-03-2001
		US	2001020043 A1	06-09-2001
WO 0121165 A	29-03-2001	AU	7596100 A	24-04-2001
US 2002173472 A1	21-11-2002	KEINE		
WO 0108671 A	08-02-2001	AU	6240200 A	19-02-2001
		CA	2379703 A1	08-02-2001
		CN	1377262 A	30-10-2002
		EP	1221949 A2	17-07-2002
		JP	2003505500 T	12-02-2003
		TR	200200246 T2	23-09-2002
EP 0704208 A	03-04-1996	AT	260648 T	15-03-2004
		CZ	9502234 A3	13-03-1996
		DE	9414066 U1	03-11-1994
		DK	704208 T3	12-07-2004
		ES	2213153 T3	16-08-2004
		HU	75241 A2	28-05-1997
		IN	188669 A1	26-10-2002
		JP	8081392 A	26-03-1996
		SK	105995 A3	08-01-1997
		US	5644011 A	01-07-1997