



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 11 801 T2** 2007.11.08

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 507 514 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 11 801.1**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US03/12727**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 724 207.0**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2003/092585**

(86) PCT-Anmeldetag: **25.04.2003**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **13.11.2003**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **23.02.2005**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **14.02.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **08.11.2007**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 9/14** (2006.01)

A61K 9/20 (2006.01)

A61K 47/32 (2006.01)

A61K 9/48 (2006.01)

A61K 9/70 (2006.01)

A61F 13/00 (2006.01)

A61F 2/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

377490 P 02.05.2002 US

(73) Patentinhaber:

PR Pharmaceuticals, Inc., Fort Collins, Col., US

(74) Vertreter:

**Kuhnen & Wacker Patent- und
Rechtsanwaltsbüro, 85354 Freising**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR**

(72) Erfinder:

**ALLISON, S., Dean, Fort Collins, CO 80526, US;
SCHMIDT, G., Paul, Niwot, CO 80503, US; HUDNUT,
S., Paul, Fort Collins, CO 80525-1909, US**

(54) Bezeichnung: **ZUSAMMENSETZUNGEN AUS ÖSTRADIOL-METABOLITEN MIT KONTROLLIERTER FREISETZUNG**

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

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

Bereich der Erfindung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft im Allgemeinen Formen von Östradiolmetaboliten mit nachhaltiger Freisetzung, sowie Verfahren für ihre Herstellung und Verwendung.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Östradiol wird durch metabolische Prozesse in vivo in verschiedene Derivate umgewandelt. Zwei spezielle Arten von Metaboliten sind die Katecholöstrogene und die Methoxyöstradiole. Die Katecholöstrogene 2-Hydroxyöstradiol und 4-Hydroxyöstradiol werden durch Hydroxylierung von Östrogen über Cytochrom-P450-Enzyme erzeugt. Die Katecholöstrogene können durch Katechol-O-Methyltransferase methyliert werden, um die Methoxyöstradiole 2-Methoxyöstradiol und 4-Methoxyöstradiol zu erzeugen.

[0003] Östradiolmetabolite wirken sich Berichten zufolge auf eine Reihe von zellulären Prozessen aus. Sie inhibieren anscheinend die Angiogenese und die Polymerisation und Organisation von Tubulin in aktiv wachsenden Zellen und induzieren in einigen Zellen eine Apoptose. Darüber hinaus scheinen 2-Hydroxyöstradiol und 2-Methoxyöstradiol den Cholesterinspiegel bei ovariektomierten Ratten zu beeinflussen und die Fettzellenvermehrung in Kultur zu inhibieren, wohingegen 2-Hydroxyöstradiol und 2-Methoxyöstradiol anscheinend die Effekte von Fettleibigkeit, Stoffwechselsyndrom und Gefäß- und Nierendysfunktion bei fettleibigen Ratten verringern. Östradiolmetabolite sind Berichten zufolge auch bei der Behandlung von Nierenerkrankungen im Endstadium und Asthma von Vorteil. Ferner scheinen Östradiolmetabolite wirksame Antipilzmittel zu sein.

[0004] Über vorteilhafte Effekte von Östradiolmetaboliten wurde auch in der Krebsbehandlung berichtet. 2-Methoxyöstradiol scheint das Wachstum von Lungenkrebszellen in Kultur zu verringern, wenn es mit Wildtyp p53 verabreicht wird, das Wachstum humaner Bauchspeicheldrüsen- und Prostatakrebszellen zu inhibieren und gegenüber Osteosarkomzellen toxisch zu sein. 2-Methoxyöstradiol verringerte Berichten zufolge auch die Wachstumsrate von Neuroblastomzellen und Tumoren der Hirnanhangdrüse. Östradiolmetabolite scheinen außerdem die intrazelluläre Akkumulation von Superoxidanionen in sich schnell teilenden Zellen zu erhöhen und die Effekte existierender Krebsbehandlungen wie Radioimmunotherapie zu verbessern.

[0005] Folglich können Östradiolmetaboliten zur Behandlung von oder Vorbeugung gegen eine Reihe verschiedener Krankheiten von Nutzen sein. Leider haben natürlich vorkommende Östradiolmetabolite eine schlechte Bioverfügbarkeit und eine kurze Halbwertszeit und die vorteilhaften Effekte scheinen an einen langen Behandlungszeitraum gebunden zu sein. Es besteht ein Bedarf an pharmazeutischen Formulierungen von Östradiolmetaboliten, die die Wirkungsdauer der Metaboliten erhöhen, ohne dass häufige Verabreichungen notwendig sind, die sowohl bei tierischen als auch bei menschlichen Patienten unerwünscht wären. Die Entwicklung eines nachhaltigen Freisetzungssystems für Östradiolmetabolite würde eine verbesserte therapeutische Option zur Behandlung einer großen Vielfalt von Krankheiten im veterinären und humanen Bereich bereitstellen.

Zusammenfassung der Erfindung

[0006] Gemäß dem/den Zweck(en) der vorliegenden Erfindung, wie hierin verkörpert und allgemein beschrieben, betrifft die vorliegende Erfindung gemäß einem Aspekt Formulierungen von Östradiolmetaboliten mit nachhaltiger Freisetzung sowie Verfahren zur Herstellung und Verwendung derselben.

[0007] In bestimmten Ausgestaltungen können die Zusammensetzungen und Verfahren einen Östradiolmetabolit und ein Material umfassen, das eine nachhaltige Freisetzung erbringt. Ein solches Material für eine nachhaltige Freisetzung kann ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Mikropartikeln, Nanopartikeln, Patches, Kristallen, Gelen, Stäben, Stints, Pellets, Scheiben, Pastillen, Plättchen, Kapseln, Filmen, Mikrokapseln, Nanokapseln, Hydrogelen, Liposomen, Implantaten und Vaginalringen. Darüber hinaus sieht die Erfindung ferner hydrophile Polymere vor. In bestimmten Ausgestaltungen stellt die vorliegende Erfindung Stoffzusammensetzungen oder Verfahren unter Verwendung von Prodrugen von Östradiolmetaboliten bereit. Solche Prodrugen können Esterderivate von Östradiolmetaboliten sein. In anderen Ausgestaltungen kann der Östradiolmetabolit derivatisiert sein.

[0008] Hydrophile Polymere zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung können unter anderem Poly(ethylenglykol), Poly(propylenglykol) und Copolymere von Poly(ethylenglykol) und Poly(propylenglykol) einschlie-

ßen.

[0009] In einer besonderen Ausgestaltung sind Östradiolmetabolite Katecholöstrogene oder Methoxyöstradiole. In bestimmten Ausgestaltungen sind sie ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 2-Methoxyöstradiol, 2-Hydroxyöstradiol, 4-Methoxyöstradiol und 4-Hydroxyöstradiol.

[0010] In anderen speziellen Ausgestaltungen können Mikropartikel oder Nanopartikel ein biologisch abbaubares Polymer umfassen, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Poly(lactid)en, Poly(glycolid)en, Poly(lactid-co-glycolid)en, Poly(milchsäure)n, Poly(glycolsäure)n, Poly(milchsäure-co-glycolsäure)n, Polycaprolacton, Polycarbonaten, Polyesteramiden, Polyanhydriden, Poly(aminosäuren), Polyorthoestern, Polyacetylen, Polycyanoacrylaten, Polyetherestern, Poly(dioxanon)en, Poly(alkylenalkylat)en, Copolymeren von Polyethylenglykol und Polyorthoester, biologisch abbaubaren Polyurethanen, Gemischen und Copolymeren davon.

[0011] Östradiolmetabolite zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung können ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus 2-Methoxyöstradiol, 2-Hydroxyöstradiol, 4-Methoxyöstradiol und 4-Hydroxyöstradiol. In einer bestimmten Ausgestaltung ist das Esterderivat eines Östradiolmetabolits ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 3-Benzoyl-2-methoxyöstradiol; 17-Benzoyl-2-methoxyöstradiol; 17-Acetyl-2-methoxyöstradiol; 3-Acetyl-2-methoxyöstradiol; 3,17-Dibenzoyl-2-methoxyöstradiol; 3,17-Diacetyl-2-methoxyöstradiol; 3-Benzoyl-4-methoxyöstradiol; 17-Benzoyl-4-methoxyöstradiol; 17-Acetyl-4-methoxyöstradiol; 3-Acetyl-4-methoxyöstradiol; 3,17-Dibenzoyl-4-methoxyöstradiol; 3,17-Diacetyl-4-methoxyöstradiol; 3-Benzoyl-2-hydroxyöstradiol; 17-Benzoyl-2-hydroxyöstradiol; 17-Acetyl-2-hydroxyöstradiol; 3-Acetyl-2-hydroxyöstradiol; 3,17-Dibenzoyl-2-hydroxyöstradiol; 3,17-Diacetyl-2-hydroxyöstradiol; 2,3-Dibenzoyl-2-hydroxyöstradiol; 2,17-Dibenzoyl-2-hydroxyöstradiol; 2,17-Diacetyl-2-hydroxyöstradiol; 2,3-Diacetyl-2-hydroxyöstradiol; 2,3,17-Tribenzoyl-2-hydroxyöstradiol; 2,3,17-Triacetyl-2-hydroxyöstradiol; 3-Benzoyl-4-hydroxyöstradiol; 17-Benzoyl-4-hydroxyöstradiol; 17-Acetyl-4-hydroxyöstradiol; 3-Acetyl-4-hydroxyöstradiol; 3,17-Dibenzoyl-4-hydroxyöstradiol; 3,17-Diacetyl-4-hydroxyöstradiol; 3,4-Dibenzoyl-4-hydroxyöstradiol; 4,17-Dibenzoyl-4-hydroxyöstradiol; 4,17-Diacetyl-4-hydroxyöstradiol; 3,4-Diacetyl-4-hydroxyöstradiol; 3,4,17-Tribenzoyl-4-hydroxyöstradiol; 3,4,17-Triacetyl-4-hydroxyöstradiol.

[0012] Zu Derivaten gehören unter anderem Dicarbonsäureverbindungen, zweiwertige Säuren, polare Verbindungen und ionische Verbindungen.

[0013] Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen können transdermal appliziert werden, wie zum Beispiel durch bukkale, orale, Okulare, nasale, rektale oder vaginale Applikation. Die Zusammensetzungen und Verfahren der vorliegenden Erfindung können auch Östradiolmetabolite in einem eutektischen Gemisch nutzen.

[0014] Die Zusammensetzungen und Verfahren der vorliegenden Erfindung können nachhaltige Freisetzungsformen von Östradiolmetaboliten nutzen, die durch jedes beliebige in der Technik bekannte Verfahren produziert werden. In speziellen Ausgestaltungen beinhalten solche Produktionsverfahren unter anderem das Sprühtrocknen einer Lösung des Polymers und Östradiolmetabolits, gelöst in einem organischen Lösungsmittel; eine Nassemulgierung, einschließlich einer kontinuierlichen und diskontinuierlichen Phase, gefolgt von Lösungsmittelbeseitigung; eine selektive Extraktion von Ölphasenlösungsmittel und Emulsion. Jedes der Produktionsverfahren kann ferner einen Annealing-Schritt vorsehen.

[0015] Die Zusammensetzungen und Verfahren der vorliegenden Erfindung können zur Behandlung eines Individuums von Nutzen sein.

[0016] Zusätzliche Vorzüge der Erfindung sind zum Teil in der folgenden Beschreibung dargelegt und zum Teil anhand der Beschreibung offensichtlich oder werden bei der Umsetzung der Erfindung erkannt. Die Vorzüge der Erfindung werden mit den Elementen und Kombinationen, die speziell in den angefügten Ansprüchen aufgezeigt werden, realisiert und erzielt. Es ist zu verstehen, dass sowohl die vorangehende allgemeine Beschreibung als auch die folgende ausführliche Beschreibung nur beispielhaft und erläuternd sind und die Erfindung, wie beansprucht, nicht beschränken.

Beschreibung der Erfindung

[0017] Die vorliegende Erfindung ist möglicherweise unter Bezugnahme auf die folgende ausführliche Beschreibung spezieller Ausgestaltungen der Erfindung und die darin enthaltenen Beispiele leichter zu verstehen.

[0018] Bevor die vorliegenden Verbindungen, Zusammensetzungen und/oder Verfahren offenbart und beschrieben werden, ist zu verstehen, dass die vorliegende Erfindung nicht auf spezifische Syntheseverfahren, spezifische Reagenzien oder Labor- oder Herstellungstechniken begrenzt ist, da diese natürlich variieren können, sofern nicht anders angegeben. Es ist auch zu verstehen, dass die hierin benutzte Terminologie nur der Beschreibung spezieller Ausgestaltungen dient und nicht begrenzend sein soll.

Definitionen

[0019] Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung haben die folgenden Begriffe die folgende Bedeutung.

[0020] Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung bezieht sich der Begriff „biologisch abbaubar“ auf Polymere, die in vivo innerhalb eines Zeitraums, der in einer speziellen therapeutischen Situation akzeptabel ist, aufgelöst oder abgebaut werden. Dieser Zeitraum liegt typischerweise bei weniger als fünf Jahren und gewöhnlich weniger als einem Jahr nach der Einwirkung eines physiologischen pH-Wertes und einer Temperatur, wie zum Beispiel ein pH-Wert von 6 bis 9 und eine Temperatur von 25°C bis 38°C.

[0021] Der Begriff „Analog“ und verwandte Begriffe bezieht/beziehen sich auf jedes beliebige Molekül, das Östradiolmetabolitaktivität demonstriert. Ein solches Molekül kann ein synthetisches Analog, ein Fragment eines Östradiolmetabolits oder ein anderes endogenes biologisches Molekül als ein Östradiolmetabolit sein, das zu einer östradiolmetabolitartigen Aktivität in der Lage ist. Insgesamt bezieht sich Östradiolmetabolitanalog auf jedes Molekül, das Bioaktivität demonstriert, die einem Östradiolmetabolit selbst ähnlich ist oder darüber hinaus geht.

[0022] Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung bezieht sich der Begriff „Prodroge“ auf jede beliebige Modifikation eines Östradiolmetabolits, einschließlich einer physikalischen oder chemischen Veränderung, die in einer erhöhten Plasmazirkulationszeit, einer erhöhten Verkapselungseffizienz und/oder einer erhöhten Wasserlöslichkeit resultiert. Die chemische(n) Modifikation oder Modifikationen am Wirkstoff sind nach der Verabreichung an ein Individuum durch endogene Mechanismen reversibel. Das Produkt solcher endogener Mechanismen ist ein Östradiolmetabolit.

[0023] Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung beinhaltet der Begriff „Östradiolmetabolit“ jedes beliebige Molekül, das sich aus dem metabolischen Abbau von Östradiol ergibt, und jedes beliebige Molekül, das von einem Östradiolmetabolit gewonnen wird, wie eine Prodroge, oder ein Analog.

[0024] Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung kann sich der Begriff „Wirkstoff“ auf jeden Östradiolmetabolit, jedes Östradiolmetabolitanalog oder eine Östradiolmetabolitprodroge beziehen.

[0025] Ferner bezieht sich für die Zwecke der vorliegenden Erfindung das Wort „eine“ Entität auf eine oder mehrere von dieser Entität; z.B. bezieht sich „eine Prodroge“ oder „ein Östradiolmetabolitmolekül“ auf eine oder mehrere dieser Verbindungen oder auf wenigstens eine Verbindung. Somit können die Wörter „ein/e/er“, „ein/e/er oder mehrere“ und „wenigstens ein/e/er“ hierin untereinander austauschbar verwendet werden. Es ist außerdem zu beachten, dass die Wörter „umfassend“, „einschließlich“ und „aufweisend“ untereinander austauschbar verwendet werden können. Ferner bezieht sich eine Verbindung „ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus“ auf eine oder mehrere der nachfolgend aufgelisteten Verbindungen, einschließlich Gemische (d.h. Kombinationen) von zwei oder mehr der Verbindungen.

[0026] Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung besteht ein „eutektisches“ Gemisch aus zwei oder mehr Substanzen, die bei der geringstmöglichen Temperatur schmelzen.

[0027] Gemäß der vorliegenden Erfindung ist ein isoliertes oder biologisch reines Molekül eine Verbindung, die aus ihrer natürlichen Umgebung entfernt wurde. Demnach reflektieren „isoliert“ und „biologisch rein“ nicht zwangsläufig das Ausmaß, in dem die Verbindung gereinigt wurde. Eine isolierte Verbindung der vorliegenden Erfindung kann von ihrer natürlichen Quelle erhalten werden, sie kann mit Synthesetechniken im Labor produziert oder über jeden beliebigen solchen chemischen Syntheseweg produziert werden.

[0028] Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung können Bereiche hierin von „etwa“ einem speziellen Wert und/oder zu „etwa“ einem anderen speziellen Wert ausgedrückt sein. Wird ein solcher Bereich ausgedrückt, beinhaltet eine andere Ausgestaltung von dem einen speziellen Wert und/oder zu dem anderen speziellen Wert. Werden Werte als Annäherungen ausgedrückt, indem das Antezedens „etwa“ verwendet wird, dann ist ebenso zu verstehen, dass der jeweilige Wert eine andere Ausgestaltung bildet. Es ist ferner zu verstehen,

dass die Endpunkte jedes der Bereiche sowohl mit Bezug auf den anderen Endpunkt als auch unabhängig von dem anderen Endpunkt signifikant sind.

[0029] Schließlich bedeutet für die Zwecke der vorliegenden Erfindung das Wort „Individuum“ ein Tier oder Mensch beider Geschlechter.

[0030] Im Folgenden wird nun ausführlich Bezug auf spezielle Ausgestaltungen der Erfindung genommen.

[0031] Natürlich vorkommende Östradiolmetabolite haben eine kurze Plasmahalbwertszeit. Die orale Bioverfügbarkeit ist gering, zum Teil aufgrund des raschen Lebermetabolismus. Darüber hinaus erfordern einige Indikationen, die mit Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen behandelt werden können, wie diabetische Nephropathie oder Fettleibigkeit, eine lange Verabreichung des/der Wirkstoffs/Wirkstoffe. Die Entwicklung von Östradiolmetabolit-, Östradiolmetabolitanalog- oder Östradiolmetabolitprodrugen-Dosierungsformen für eine Zuführung über längere Zeiträume ist eine neuartige Weise zur Verabreichung dieser speziellen Therapeutika in einer nützlichen Formulierung.

[0032] Es gibt zwei Hauptstrategien zur Verlängerung der Kontaktdauer mit schnell metabolisierten Wirkstoffen, besonders Steroiden. Die erste ist die Erhöhung der Plasmazirkulationszeit durch chemisches Modifizieren des Steroids mit organischen Säuren, um Steroidesterprodrugen zu bilden. Nach der Zuführung wird die Steroidesterbindung gespalten, um die Stammverbindung durch endogene Enzyme zu bilden. Dem Steroid durch die organische Säure oder eine andere modifizierende Verbindung verliehene physikalische und chemische Eigenschaften bestimmen die Geschwindigkeit, mit der die Stammverbindung aus ihrer Prodrugenform freigesetzt wird. Auf diese Weise lässt sich die Plasmazirkulationszeit auf kontrollierte Weise erhöhen. Der anhaltende Kontakt mit einer Steroidesterprodrugen kann über jeden beliebigen Zuführungsweg, einschließlich intravenös, peroral, intramuskulär, subkutan, transdermal, rektal, okular und so weiter, realisiert werden. Bestimmte Ausgestaltungen der vorliegenden Erfindung stellen Zusammensetzungen für wasserlösliche Formulierungen von Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen mit erhöhter Halbwertszeit bereit, die parenteral oder oral zugeführt werden können.

[0033] Die zweite Strategie zum Erreichen eines nachhaltigen Kontakts mit Östradiolmetabolittherapeutika sieht den Einbau von Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen in irgendein polymeres Zuführungssystem mit nachhaltiger Freisetzung vor. Nachhaltige Freisetzungsvorrichtungen können Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen selbst mit erhöhten Plasmahalbwertszeiten gegenüber denen der Stammverbindungen einschließen. Von besonderem Vorteil in der Herstellung von Zuführungssystemen mit nachhaltiger Freisetzung, die Östradiolmetabolite einschließen, ist die Fähigkeit, die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Metabolits zu modifizieren, wie z.B. durch Veresterung, um die Freisetzungseigenschaften des endgültigen Zuführungssystems zu optimieren. In bestimmten Ausgestaltungen der vorliegenden Erfindung können Formulierungen aus einem Gemisch von Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen und einer anderen Verbindung bestehen, die eine Flüssigkeit bei Körpertemperatur bildet, wie bei einem eutektischen Gemisch. In anderen Ausgestaltungen werden Formulierungen beschrieben, die aus einem Reservoir und Permeationshilfen für die transdermale Zuführung von Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen davon bestehen. In noch anderen Ausgestaltungen beschreibt die Erfindung die Zusammensetzung von Polymermatrizen für die kontrollierte Freisetzung von Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen davon. Solche Matrizen können aus Polymermikropartikeln oder Nanopartikeln bestehen. In speziellen Ausgestaltungen sind solche Polymere biologisch abbaubar.

Östradiolmetabolite

[0034] In bestimmten Ausgestaltungen ist der Östradiolmetabolit ein Katecholöstradiol wie 2-Hydroxyöstradiol (Östra-1,3,5(10)-trien-2,3,17-triol (17β)) oder 4-Hydroxyöstradiol (Östra-1,3,5(10)-trien-3,4,17-triol (17β)) oder ein Methoxyöstradiol, wie 2-Methoxyöstradiol (Östra-1,3,5(10)-trien-2-methoxy-3,17-diol (17β)) oder 4-Methoxyöstradiol (Östra-1,3,5(10)-trien-4-methoxy-3,17-diol (17β)). Handelsübliche Präparate von allen diesen Verbindungen sind ohne weiteres erhältlich. Darüber hinaus ist ein Verfahren zur Herstellung eines hoch gereinigten 2-Methoxyöstradiols in der provisorischen US-Patentanmeldung Nr. 150,293 offenbart.

[0035] In bestimmten Ausgestaltungen kann der Östradiolmetabolit an ein hydrophiles Polymer angelagert werden. Das hydrophile Polymer kann ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Poly(propylenglykol), Poly(ethylenglykol), Copolymeren von Poly(ethylenglykol) und Poly(propylenglykol). In speziellen Ausgestaltungen ist das hydrophile Molekül Poly(ethylenglykol) (PEG).

[0036] In einer alternativen Ausgestaltung ist der Östradiolmetabolit mit Mikropartikeln oder Nanopartikeln verbunden. In bestimmten Ausgestaltungen werden die Mikropartikel oder Nanopartikel ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Poly(lactid)en, Poly(glycolid)en, Poly(lactid-co-glycolid)en, Poly(milchsäure)n, Poly(glycolsäure)n, Poly(milchsäure-co-glycolsäure)n, Polycaprolacton, Polycarbonaten, Polyesteramiden, Poly-anhydriden, Poly(aminosäuren), Polyorthoestern, Polyacetylen, Polycyanoacrylaten, Polyetherestern, Poly(di-oxanone)n, Poly(alkylenalkylat)en, Copolymeren von Polyethylenglykol und Polyorthoester, Polyurethanen, Gemischen und Copolymeren davon. In einer speziellen Ausgestaltung ist der Mikropartikel oder Nanopartikel Poly(lactid-co-glycolid) (PLGA). In einer anderen speziellen Ausgestaltung besteht der Mikropartikel oder Nanopartikel aus einem biologisch abbaubaren Polymer.

[0037] Die Fachperson wird erkennen, dass die oben aufgelisteten Verbindungen nur beispielhaft sind und dass je nach der jeweiligen Hydroxylierungs- oder Methylierungsstelle auf der Stammöstradiolverbindung viele Variationen verwendet werden können. Östradiol kann zum Beispiel an vielen Stellen hydroxyliert oder methyliert werden, und solche Variationen sind in der Technik bekannt.

Ester von Östradiolmetaboliten

[0038] In bestimmten Ausgestaltungen werden Ester von Östradiolmetaboliten zur Erzeugung von Prodrugen verwendet. Die Esterbindung bleibt während der Herstellung und Lagerung des Wirkstoffs intakt und wird erst nach der Verabreichung an einen Patienten für Hydrolyse anfällig. Folglich sind Ester optimale Prodrugen, weil eine physiologische Umgebung reichlich endogene Esterasen hat, um die Hydrolyse der Bindung zu katalysieren. Sobald eine Hydrolyse stattfindet, bleiben nur der aktive Östradiolmetabolit und die nicht toxische biologische Verbindung, wie z.B. Essigsäure oder Propionsäure, bestehen.

[0039] In einer bestimmten Ausgestaltung werden Ester von Östradiolmetaboliten verwendet, um die Löslichkeit von Östradiolmetaboliten zu regeln. Wasserlöslichkeit kann zum Beispiel durch Veresterung mit Bernsteinsäure verliehen werden. Andere Ester können die Löslichkeit in einer Vielfalt anderer Lösungsmittel verbessern und können auch eine gewisse Interaktion zwischen einem Östradiolmetabolitester und einem Polymer zulassen, das eine Zuführungsvorrichtung mit nachhaltiger Freisetzung umfasst, die wiederum die Freisetzung der Esterprodroge von der Polymermatrix in die umgebenden Gewebeflüssigkeiten regeln würde.

[0040] In einer speziellen Ausgestaltung beinhalten Ester von 2-Methoxyöstradiol unter anderem 3-Benzoyl-2-methoxyöstradiol, 17-Benzoyl-2-methoxyöstradiol, 17-Acetyl-2-methoxyöstradiol, 3-Acetyl-2-methoxyöstradiol, 3,17-Benzoyl-2-methoxyöstradiol und 3,17-Diacetyl-2-methoxyöstradiol.

[0041] In einer weiteren speziellen Ausgestaltung beinhalten Ester von 4-Methoxyöstradiol unter anderem 3-Benzoyl-4-methoxyöstradiol, 17-Benzoyl-4-methoxyöstradiol, 17-Acetyl-4-methoxyöstradiol, 3-Acetyl-4-methoxyöstradiol, 3,17-Dibenzoyl-4-methoxyöstradiol und 3,17-Diacetyl-4-methoxyöstradiol.

[0042] In einer alternativen speziellen Ausgestaltung beinhalten Ester von 2-Hydroxyöstradiol unter anderem 3-Benzoyl-2-hydroxyöstradiol, 17-Benzoyl-2-hydroxyöstradiol, 17-Acetyl-2-hydroxyöstradiol, 3-Acetyl-2-hydroxyöstradiol, 3,17-Dibenzoyl-2-hydroxyöstradiol, 3,17-Diacetyl-2-hydroxyöstradiol, 2,3-Dibenzoyl-2-hydroxyöstradiol, 2,17-Dibenzoyl-2-hydroxyöstradiol, 2,17-Diacetyl-2-hydroxyöstradiol, 2,3-Diacetyl-2-hydroxyöstradiol, 2,3,17-tribenzoyl-2-hydroxyöstradiol und 2,3,17-Triacetyl-2-hydroxyöstradiol.

[0043] In einer anderen speziellen Ausgestaltung beinhalten Ester von 4-Hydroxyöstradiol unter anderem 3-Benzoyl-4-hydroxyöstradiol, 17-Benzoyl-4-hydroxyöstradiol, 17-Acetyl-4-hydroxyöstradiol, 3-Acetyl-4-hydroxyöstradiol, 3,17-Dibenzoyl-4-hydroxyöstradiol, 3,17-Diacetyl-4-hydroxyöstradiol, 3,4-Dibenzoyl-4-hydroxyöstradiol, 4,17-Dibenzoyl-4-hydroxyöstradiol, 4,17-Diacetyl-4-hydroxyöstradiol, 3,4-Diacetyl-4-hydroxyöstradiol, 3,4,17-Tribenzoyl-4-hydroxyöstradiol und 3,4,17-Triacetyl-4-hydroxyöstradiol.

[0044] In einer bestimmten Ausgestaltung können Ester von allen vier Östradiolmetaboliten organische Säurederivate des ursprünglichen Östradiolmetabolits sein. Zu speziellen Ausgestaltungen gehören unter anderem Ester von Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Hexansäure, Benzoessäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Stearinsäure und andere Fettsäuren.

[0045] Östradiolmetabolite zur Verwendung in der vorliegenden Erfindung können ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus 2-Methoxyöstradiol, 2-Hydroxyöstradiol, 4-Methoxyöstradiol und 4-Hydroxyöstradiol. In einer speziellen Ausgestaltung wird das Esterderivat eines Östradiolmetabolits ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus 3-Benzoyl-2-methoxyöstradiol; 17-Benzoyl-2-methoxyöstradiol; 17-Acetyl-2-methoxy-

östradiol; 3-Acetyl-2-methoxyöstradiol; 3,17-Dibenzoyl-2-methoxyöstradiol; 3,17-Diacetyl-2-methoxyöstradiol; 3-Benzoyl-4-methoxyöstradiol; 17-Benzoyl-4-methoxyöstradiol; 17-Acetyl-4-methoxyöstradiol; 3-Acetyl-4-methoxyöstradiol; 3,17-Dibenzoyl-4-methoxyöstradiol; 3,17-Diacetyl-4-methoxyöstradiol; 3-Benzoyl-2-hydroxyöstradiol; 17-Benzoyl-2-hydroxyöstradiol; 17-Acetyl-2-hydroxyöstradiol; 3-Acetyl-2-hydroxyöstradiol; 3,17-Dibenzoyl-2-hydroxyöstradiol; 3,17-Diacetyl-2-hydroxyöstradiol; 2,3-Dibenzoyl-2-hydroxyöstradiol; 2,17-Dibenzoyl-2-hydroxyöstradiol; 2,17-Diacetyl-2-hydroxyöstradiol; 2,3-Diacetyl-2-hydroxyöstradiol; 2,3,17-Tribenzoyl-2-hydroxyöstradiol; 2,3,17-Triacetyl-2-hydroxyöstradiol; 3-Benzoyl-4-hydroxyöstradiol; 17-Benzoyl-4-hydroxyöstradiol; 17-Acetyl-4-hydroxyöstradiol; 3-Acetyl-4-hydroxyöstradiol; 3,17-Dibenzoyl-4-hydroxyöstradiol; 3,17-Diacetyl-4-hydroxyöstradiol; 3,4-Dibenzoyl-4-hydroxyöstradiol; 4,17-Dibenzoyl-4-hydroxyöstradiol; 4,17-Diacetyl-4-hydroxyöstradiol; 3,4-Diacetyl-4-hydroxyöstradiol; 3,4,17-Tribenzoyl-4-hydroxyöstradiol; 3,4,17-Triacetyl-4-hydroxyöstradiol.

[0046] Verfahren zum Synthetisieren mehrerer Ester von Östradiolmetaboliten sind bekannt (siehe z.B. das japanische Patent Nr. 57,041,479 und 49,100,070).

[0047] In einer alternativen Ausgestaltung kann der Ester eines Östradiolmetabolits an ein hydrophiles Polymer angelagert werden. Ein hydrophiles Polymer erhöht die Halbwertszeit der Verbindung und ermöglicht außerdem weniger häufige und geringere Dosisverabreichungen. In bestimmten Ausgestaltungen wird eine hydrolysierbare Verknüpfung einbezogen, um das Estermolekül nach der Hydrolyse vom hydrophilen Polymer zu befreien. Dadurch kann das Estermolekül erst nach der Hydrolyse in das Zytoplasma von Zellen eintreten, da es eine Zellmembran mit angelagertem hydrophilen Molekül wie PEG langsamer oder gar nicht passieren kann.

[0048] In bestimmten Ausgestaltungen kann der Ester eines Östradiolmetabolits mit oder ohne angelagertes hydrophiles Polymer auch in Mikropartikel wie Mikrosphären oder Nanosphären eingebaut werden.

[0049] Die Fachperson wird erkennen, dass die oben aufgeführten Verbindungen nur beispielhaft sind und dass je nach dem von einem speziellen Östradiolmetabolit erzeugten speziellen Esterderivat viele Variationen verwendet werden können. Solche Variationen sind in der Technik bekannt.

Herstellung von intravenösen oder oralen Formulierungen von Östradiolmetaboliten

[0050] In bestimmten Ausgestaltungen werden Östradiolmetabolite, Östradiolmetabolitanaloga oder Östradiolmetabolitprodrugen mit polaren oder ionischen Verbindungen derivatisiert, so dass das Derivat wasserlöslich ist und eine längere Plasmazirkulationszeit im Vergleich zum Stammmetabolit aufweist. In einer speziellen Ausgestaltung werden Östradiolmetabolite, Östradiolmetabolitanaloga oder Östradiolmetabolitprodrugen mit Dicarbonsäureverbindungen derivatisiert, inklusive, aber nicht begrenzt auf, Oxal-, Malon-, Malein-, Bernstein-, Glutar-, Adipin-, Pimelin-, Pamoik- oder andere zweiwertige Säuren. In einer anderen speziellen Ausgestaltung werden zweiwertige Säuren mit kürzeren intervenierenden Kohlenstoffketten verwendet, wie Bernstein-, Glutar-, Malein-, Malon- oder Oxalsäuren. Verbindungen wie diese verleihen eine erhöhte Wasserlöslichkeit und erhöhte Plasmazirkulationszeiten in Kombination mit Östradiolmetaboliten. Verfahren zur Veresterung mit zweiwertigen Säuren können mit dem geeigneten Anhydrid oder Mischanhydrid der zweiwertigen Säure mit in der Technik allgemein bekannten Methoden durchgeführt werden. Die Erfindung beinhaltet alle Modifikationen an Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen, die eine erhöhte Wasserlöslichkeit und Plasmalebensdauer erzielen. Die durchschnittliche Fachperson kann sich solche Derivate vorstellen und Synthesewege für solche Derivate ohne weiteres entwickeln (z.B. US-Patent Nr. 2,897,218). Jede beliebige funktionelle Gruppe auf dem Östradiolmetabolit oder Östradiolmetabolitester kann derivatisiert werden.

Herstellung transdermaler Formulierungen von Östradiolmetaboliten

[0051] In bestimmten Ausgestaltungen werden Östradiolmetabolite, Östradiolmetabolitanaloga oder Östradiolmetabolitprodrugen davon mit geeigneten Vehikeln vermischt, die ein Reservoir umfassen, von dem aus sich der Wirkstoff in die Haut in einer angemessenen Geschwindigkeit verteilen kann. Der Wirkstoff muss durch die schützende Hornschichtbarriere der Haut diffundieren, bevor er in die Hautschicht eintritt, von wo aus die systemische Wirkstoffabsorption stattfindet. Die Permeation kann durch physikalische Mittel wie eine erhöhte Hydratation, Anwendung von Ultraschall, thermische oder elektrische Potentiale oder durch chemische Mittel wie der Einbau von Fettsäureestern, chaotropen Mitteln, Polyolen, Terpenoiden oder Tensiden verbessert werden. Die Verteilung zwischen Vehikel und Hornschicht der Haut hängt von der relativen Löslichkeit des Wirkstoffs in der jeweiligen Umgebung ab. Folglich können sowohl die Identität des Vehikels als auch die Zusammensetzung

zung des Wirkstoffs zum Beispiel über Veresterung verändert werden, um das Freisetzungsprofil des Wirkstoffs von dem transdermalen Patch zu optimieren. In einer speziellen Ausgestaltung werden Lösungen oder Feststoffsuspensionen von Östradiolmetabolit in Medien hergestellt, die Hautpenetrationsverbesserer und/oder biokompatible Lösungsmittel oder Gemische von Lösungsmitteln oder einen transdermalen Klebstoff enthalten. Die Suspension hat die Aufgabe, die Auflösung in und transdermale Permeation des Wirkstoffs durch die Hornschicht der Haut zu fördern. In einer anderen speziellen Ausgestaltung werden Östradiolmetabolite, Östradiolmetabolitanaloga oder Östradiolmetabolitprodrugen in einem Vehikel wie Menthol aufgelöst, so dass die Formulierung bei Hauttemperatur flüssig ist. In einer anderen speziellen Ausgestaltung werden Östradiolmetabolite, Östradiolmetabolitanaloga oder Östradiolmetabolitprodrugen in einem angemessenen transdermalen Klebstoff suspendiert oder aufgelöst und in einen Standardwirkstoff in einem adhäsiven transdermalen Patch eingebaut oder in ein mehrlagiges Patch eingebaut, das Wirkstoff in Klebstoff (neben der Haut), eine geschwindigkeitsregulierende Membran und einen Wirkstoff in Klebstoff umfasst, der als Reservoir dient.

Herstellung von Mikropartikelformulierungen von Östradiolmetaboliten mit nachhaltiger Freisetzung

[0052] First-Pass-Lebermetabolismus verringert die Bioverfügbarkeit von oral zugeführten Steroiden. Folglich werden Steroide oft per Injektion verabreicht. Steroide haben typischerweise eine kurze Wirkung, so dass eine chronische Behandlung wiederholte Injektionen voraussetzt. Die Bildung von Östradiolmetabolit oder Östradiolmetabolitanalogprodrugen durch Steroidveresterung und Derivatisierung oder parenterale Zuführung in einem Ölvehikel verringert die Dosierungshäufigkeit. Eine alternative Möglichkeit zum Erreichen eines therapeutischen Niveaus von Östradiolmetaboliten über einen längeren Zeitraum ist der Einbau von Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen in Vorrichtungen für eine verlängerte Zuführung.

[0053] Eine bestimmte Ausgestaltung der vorliegenden Erfindung stellt Mikrosphären bereit, die aus Poly-D,L-(lactid-co-glycolid) bestehen. Dieser Polyester ist biokompatibel und kann eine lange Bilanz medizinischer Sicherheit vorweisen. Polymererosion im Körper regelt die Geschwindigkeit der Wirkstofffreisetzung und die Fachperson ist in der Lage, diese Geschwindigkeit zu beeinflussen. Dosiersysteme mit verlängerter Freisetzung sind eine ideale Ergänzung für Östradiolmetabolitbehandlungen bei Krankheiten wie Diabetes Typ II, die oft eine lebenslange Wirkstofftherapie erfordern.

[0054] Die Erfindung stellt ferner Verfahren zur Verkapselung von Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen in geeigneten Polymerzuführungsvorrichtungen für eine nachhaltige Freisetzung bereit. Der Wirkstoff kann durch die Polymermatrix dispergiert werden oder alternativ kann der Wirkstoff entweder alleine oder als ein Gemisch mit einem anderen Polymer, Lösungsmittel oder einem anderen Agens von einer Polymerkapsel umgeben werden. Die Freisetzung des Wirkstoffs kann durch Diffusion durch die Polymermatrix oder durch eine Kombination aus Wirkstoffdiffusion durch die Polymermatrix und Erosion der Polymerzuführungsvorrichtung geregelt werden. Zu bevorzugten Vorrichtungen gehören Stäbe, Stints, Pellets, Scheiben, Pastillen, Plättchen, Kapseln, Filme, Mikropartikel oder Nanopartikel, Mikrokapseln oder Nanokapseln. In einer speziellen Ausgestaltung werden Östradiolmetabolite, Östradiolmetabolitanaloga oder Östradiolmetabolitprodrugen mit einem biologisch abbaubaren Polymer in Mikropartikel- oder Nanopartikelform verbunden.

[0055] In bestimmten Ausgestaltungen werden die Östradiolmetabolite, Östradiolmetabolitanaloga oder Östradiolmetabolitprodrugen mit einem Polymer in Mikropartikelform verbunden. In einer bevorzugten Ausgestaltung hat ein Mikropartikel einen bevorzugten Durchmesser von weniger als 1,0 mm und liegt vorzugsweise zwischen 1,0 und 200,0 Mikrometer. Mikropartikel beinhalten sowohl Mikrosphären als auch Mikrokapseln. Mikrosphären sind typischerweise feste sphärische Mikropartikel und Mikrokapseln sind Mikrosphären mit einem Kern aus einem/r unterschiedlichen Polymer, Wirkstoff oder Zusammensetzung.

[0056] In bestimmten Ausgestaltungen werden die Östradiolmetabolite, Östradiolmetabolitanaloga oder Östradiolmetabolitprodrugen, mit oder ohne angelagertem hydrophilem Polymer, mit biologisch abbaubaren Submikronpartikeln für eine kontrollierte Freisetzung der Metabolitmoleküle verbunden. Ein Nanopartikel hat einen Durchmesser von 20,0 Nanometern bis etwa 2,0 Mikron und liegt gewöhnlich zwischen 100,0 Nanometer und 1,0 Mikron.

[0057] Nanopartikel können durch jede beliebige in der Technik bekannte Methode erzeugt werden. Sie können in der gleichen Weise wie Mikropartikel erzeugt werden, mit der Ausnahme, dass eine Hochgeschwindigkeitsmischung oder Homogenisierung angewendet wird, um die Größe der Polymer/Bioaktivmittel-Emulsionen auf weniger als 2,0 Mikron und vorzugsweise unter 1,0 Mikron zu reduzieren (siehe z.B. WO 97/04747).

[0058] In bestimmten Ausgestaltungen bestehen die Mikropartikel oder Nanopartikel aus Poly(lactid)en, Poly(glycolid)en, Poly(lactid-co-glycolid)en, Poly(milchsäure)n, Poly(glycolsäure)n, Poly(milchsäure-co-glycolsäure)n, Polycaprolacton, Polycarbonaten, Polyesteramiden, Polyanhydriden, Poly(aminosäuren), Polyorthoestern, Polyacetylen, Polycyanoacrylaten, Polyetherestern, Poly(dioxanon)en, Poly(alkylenalkylat)en, Copolymeren von Polyethylenglykol und Polyorthoester, biologisch abbaubaren Polyurethanen, Gemischen und Copolymeren davon.

[0059] In einer anderen Ausgestaltung ist der Mikropartikel oder Nanopartikel Poly(lactid-co-glycolid) (PLGA). PLGA baut bei der Einwirkung eines physiologischen pH-Wertes ab und hydrolysiert zu Milchsäure und Glycolsäure, die normale Nebenprodukte des Zellstoffwechsels sind. Die Zerfallgeschwindigkeit von PLGA-Polymeren variiert je nach der relativen Molekülmasse des Polymers, dem Verhältnis zwischen Lactid- und Glycolidmonomeren in der Polymerkette und der Stereoregularität der Monomeruntereinheiten. Die Polymerzerfallgeschwindigkeit wird durch Gemische von L- und D-Stereoisomeren erhöht, die die Polymerkristallinität zerstören. Darüber hinaus können Mikrosphären Gemische aus zwei oder mehreren biologisch abbaubaren Polymeren mit unterschiedlicher relativer Molekülmasse und/oder unterschiedlichem Monomerverhältnis enthalten.

[0060] In anderen alternativen Ausgestaltungen können derivatisierte biologisch abbaubare Mikropartikel, einschließlich an PLGA angelagerter hydrophiler Polymere, zur Bildung von Mikrosphären verwendet werden.

[0061] Die illustrativen Ausgestaltungen beschreiben Verfahren zur Verkapselung von Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen. Verfahren können auf der Basis verschiedener Überlegungen gewählt und adaptiert werden, einschließlich der Löslichkeit des Östradiolmetabolits in einem speziellen Lösungsmittel, des gewünschten physikalischen Zustands des Wirkstoffs in dem endgültigen Zuführungssystem, der gewünschten Wirkstoffladung in dem Mikrosphärenzuführungssystem, der gewünschten Freisetzungsgeschwindigkeit und der Dauer der Freisetzung des Wirkstoffs von dem Zuführungssystem, der gewünschten Partikelgröße und so weiter. Mikrosphären können durch jede beliebige in der Technik allgemein bekannte Methode hergestellt werden. In bestimmten Ausgestaltungen werden Mikrosphären durch einzelne oder doppelte Emulsionsschritte und anschließende Lösungsmittelbeseitigung produziert. In alternativen Ausgestaltungen können andere bekannte Verfahren wie Sprühtrocknung, Lösungsmittelverdampfung, Phasentrennung und Koazervierung zum Erzeugen von Mikrosphären angewendet werden. Andere Verfahren und Variationen von Obigem sind in der Technik ebenfalls bekannt und können in der vorliegenden Erfindung ebenfalls angewendet werden.

[0062] In einer speziellen Ausgestaltung werden polymere Mikropartikel durch Sprühtrocknen einer Lösung aus Polymer und Östradiolmetaboliten, Östradiolmetabolitanalogen oder Östradiolmetabolitprodrugen gebildet, gelöst in einem angemessenen organischen Lösungsmittel. Die Konzentrationen von Polymer und Lösungsmittel werden geregelt, um Mikropartikel zu erhalten, die ein vorbestimmtes Gewichtsverhältnis zwischen Wirkstoff und Polymer aufweisen. Die Kernladung regelt zum Teil die Freisetzungseigenschaften dieses speziellen Wirkstoffs von der Zuführungsvorrichtung.

[0063] In einer anderen speziellen Ausgestaltung werden polymere Mikropartikel durch Nassemulgierung und anschließende Lösungsmittelbeseitigung gebildet. Wirkstoff und Polymer werden in einem geeigneten organischen Lösungsmittel gelöst, das die diskontinuierliche, dispergierte Phase der Emulsion umfasst. In bestimmten Ausgestaltungen enthält das diskontinuierliche Phasenlösungsmittel auch ein Konservierungsmittel, wie ein Antioxydationsmittel, einen Puffer oder ein anderes Agens, das die chemische Integrität der Mikropartikelkomponenten bewahren soll. Das Konservierungsmittel kann in dem diskontinuierlichen Phasenlösungsmittel gelöst oder suspendiert werden. Das gewählte organische Lösungsmittel muss ausreichend Wirkstoff und Polymer solubilisieren können, um eine Lösung zu erhalten, die Mikrosphären bilden kann, wenn sie mit einer kontinuierlichen Phase vermischt wird, und anschließend eine, die Mikropartikel nach dem Beseitigen des Lösungsmittels nach dem Dispergieren der diskontinuierlichen Phase in der kontinuierlichen Phase bilden kann. Zum Solubilisieren ausreichender Mengen von sowohl Wirkstoff als auch Polymer kann eine Kombination von Lösungsmitteln verwendet werden. In speziellen Ausgestaltungen wird eine Menge eines zweiten Lösungsmittels, das den Wirkstoff enthält, mit einem Lösungsmittel vermischt, das das Polymer enthält. Das zweite Lösungsmittel ist mit dem ersten Lösungsmittel ausreichend mischbar, so dass eine klare, homogene Lösung beim Mischen der beiden diskontinuierlichen Phasenlösungsmittel entsteht. Das zweite Lösungsmittel kann mit dem kontinuierlichen Phasenlösungsmittel unvermischbar, teilweise mischbar oder völlig mischbar sein.

[0064] Das diskontinuierliche Phasenlösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch kann mit dem kontinuierlichen Phasenlösungsmittel unvermischbar oder teilweise mischbar sein. In speziellen Ausgestaltungen unter

Verwendung eines einzelnen diskontinuierlichen Phasenlösungsmittels kann dieses Lösungsmittel zwischen 0,05 % und 20 % mit dem kontinuierlichen Phasenlösungsmittel mischbar sein. In einer anderen speziellen Ausgestaltung ist das diskontinuierliche Phasenlösungsmittel zwischen 1 % und 10 in dem kontinuierlichen Phasenlösungsmittel mischbar.

[0065] Das diskontinuierliche Phasenlösungsmittel wird mit einer kontinuierlichen Phasenflüssigkeit vermischt, die angemessene Emulsionsstabilisatoren enthält, die zum Bilden einer Emulsion notwendig sind. Die kontinuierliche Phasenflüssigkeit ist typischerweise weder ein Lösungsmittel für das Polymer noch für den verkapselten Wirkstoff. Die kontinuierliche Phase kann jedoch ein Lösungsmittel für das/die diskontinuierliche(n) Phasenlösungsmittel sein. Das Volumen- oder Massenverhältnis zwischen diskontinuierlichem Phasenlösungsmittel und kontinuierlichem Phasenlösungsmittel im Laufe der Emulgierung kann jedes beliebige Verhältnis sein, das die Bildung von Mikropartikeln mit den gewünschten Charakteristiken ermöglicht, einschließlich z.B. Partikelgröße und physikalischer Zustand des in den Mikropartikeln verkapselten Wirkstoffs. In einer speziellen Ausgestaltung kann das Volumenverhältnis zwischen diskontinuierlicher Phase und kontinuierlicher Phase bei 0,5:1 bis 30:1 liegen. In bestimmten Ausgestaltungen kann die kontinuierliche Phase Spuren- bis Sättigungsmengen des diskontinuierlichen Phasenlösungsmittels oder eines Gemischs von Lösungsmitteln enthalten, die die Extraktion des/der diskontinuierlichen Lösungsmittel von der Ölphase der Emulsion modulieren sollen. In einer speziellen Ausgestaltung ist die kontinuierliche Phasenflüssigkeit Wasser.

[0066] Emulgatoren können zur kontinuierlichen Phasenflüssigkeit gegeben werden, um die Emulsion bei der Bildung und anschließenden Beseitigung des diskontinuierlichen Phasenlösungsmittels zu stabilisieren. Beispiele für solche Emulgatoren sind Phospholipide wie Lecithin, ionische und nicht ionische Tenside, Poloxamere oder Polymere wie Polyvinylpyrrolidon und Polyvinylalkohol. In bevorzugten Ausgestaltungen wird Polyvinylalkohol in Konzentrationen von 0,05 bis 10 % w/v verwendet. In einer speziellen Ausgestaltung wird Polyvinylalkohol in Konzentrationen zwischen 0,3 und 4 % w/v in der wässrigen Phase verwendet.

[0067] Bei der Nassemulgierung wird die Partikelgröße zum Teil durch die Art und Menge des in der wässrigen Phase enthaltenen Emulgators und außerdem durch die Mischenergie geregelt, die zum Dispergieren der diskontinuierlichen Phase in die kontinuierliche Phase verwendet wird. Das Vermischen kann durch verschiedene Mittel erreicht werden, wie Schnellrühren der Phasen in einem einzelnen Gefäß mit einem Magnetstab, einer Laufradvorrichtung und einem Rotor-Stator-Homogenisator oder Sonden- oder Bad-Sonicator. In einer speziellen Ausgestaltung wird das Vermischen durch Rühren mit einem Magnetstab erzielt.

[0068] Die Lösungsmittelbeseitigung aus der diskontinuierlichen Phase der Emulsion und die resultierende Härtung von Mikropartikeln kann mit verschiedenen Mitteln erzielt werden. Die Emulsion kann ohne Extraktion bei einer vorbestimmten Temperatur über einen definierten Zeitraum vor der Lösungsmittelextraktion gehalten werden. Alternativ kann das organische Lösungsmittel sofort nach der Emulgierung extrahiert werden.

[0069] In bestimmten Ausgestaltungen der vorliegenden Erfindung kann die Lösungsmittelbeseitigung durch Verdampfung geregelt werden. In anderen Ausgestaltungen kann die Verdampfung durch Aufbringen von reduziertem Druck unterstützt werden. In einer bestimmten Ausgestaltung kann das Lösungsmittel teilweise mit Wasser mischbar sein, so dass sich nach der Emulgierung eine schnelle Härtung von Mikropartikeln aus der Zugabe einer ausreichenden weiteren Wassermenge zur Emulsion ergibt, um das gesamte in der Emulsion enthaltene organische Lösungsmittel zu solubilisieren. Die Geschwindigkeit, mit der das Extraktionsmedium zur Emulsion gegeben wird, oder die Geschwindigkeit, mit der die Emulsion zum Extraktionsmedium gegeben wird, kann je nach der gewünschten Lösungsmittelextraktionsgeschwindigkeit variieren, die wiederum von der Empfindlichkeit des Wirkstoff/Polymersystems gegenüber Änderungen der Lösungsbedingungen abhängig ist. Die Fachperson ist in der Lage, diese Faktoren zu bestimmen. In einer weiteren Ausgestaltung kann eine diskontinuierliche Phasenlösungsmittelextraktion durch Modulieren der Temperatur der Emulsion erreicht werden, so dass die Löslichkeit der diskontinuierlichen Phase in der kontinuierlichen Phase zunimmt, um das diskontinuierliche Phasenlösungsmittel ausreichend zu extrahieren.

Beispiele

[0070] Die Fachperson wird verstehen, dass die in den folgenden Beispielen offenbarten Techniken solche Techniken repräsentieren, die Feststellungen der Erfinder zufolge in der Praxis der Erfindung gut funktionieren und daher als die bevorzugten Methoden für ihre Umsetzung angesehen werden können.

1. Beispiel. Verkapselung von 2-Methoxyöstradiol in Poly-(lactid-co-glycolid)-Mikrosphären

[0071] 1,6 g Poly-(lactid-co-glycolid) (PLGA) mit einem Molverhältnis zwischen Lactid- und Glycolidmonomer von 1:1 und mit einer Grundviskosität von 0,15 dl/g (PLGA 5050 2A, Medisorb, USA) und 800 mg 2-Methoxy-östradiol (2MB) wurden in 28 ml Ethylacetat durch Erhitzen auf 65°C gelöst. Diese Ölphase wurde langsam in 80 ml eines wässrigen Polyvinylalkohols (durchschnittliche relative Molekülmasse 100 kD, 1 % w/v) in einem 250-ml-Becher gegossen, der einen Magnetstab mit einer Rührdrehzahl von 450 rpm enthielt. Das Gemisch wurde somit 5 Minuten lang emulgiert, woraufhin die Emulsion schnell in 600 ml eines wässrigen 1 % w/v Polyvinylalkohols gegossen wurde. Man ließ die Mikrosphären 3 Stunden lang durch Magnetrühren bei Raumtemperatur und Umgebungsdruck härten. Die gehärteten Partikel wurden aufgefangen und mit Wasser durch Zentrifugation gewaschen und dann lyophilisiert.

[0072] Eine Probe trockener Mikrosphären wurde in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst und das in der Probe vorhandene 2MB wurde durch HPLC-Analyse gegen Standardkonzentrationen des Wirkstoffs quantisiert. Die Kernladung betrug 28,0 Gew.-% 2MB. Die Verkapselungseffizienz wurde als das prozentuale Verhältnis zwischen gemessener Kernladung und nomineller Kernladung berechnet und lag für dieses Präparat bei 85 %.

[0073] 18 mg 2ME-Mikrosphären mit 5 mg 2ME wurden in einem Vehikel aus 0,25 ml Natriumcarboxymethylcellulose, 2,5 Gew.-%, suspendiert. Die Suspension wurde subkutan in Sprague-Dawley-Ratten injiziert. Drei Tiere wurden zu vorgegebenen Zeitpunkten geopfert, die Injektionsstellen wurden seziert, Blutproben wurden entnommen und Plasma wurde getrennt und bei -80°C eingefroren. Mikrosphärenimplantate wurden von den Injektionsstellen isoliert und mit DMSO extrahiert, um den nicht freigesetzten Wirkstoff durch HPLC zu quantifizieren. Die In-vivo-Freisetzung wurde durch Subtrahieren der Menge des in den Implantaten verbleibenden Wirkstoffs von der Gesamtmenge an injiziertem 2ME berechnet. Das In-vivo-Freisetzungsprofil zeigt eine schlagartige Freisetzung (Burst Release) von etwa 35 % am ersten Tag, gefolgt von einer linearen Freisetzung von 100 % des verkapselten Wirkstoffs in 28 Tagen.

[0074] Die gefrorenen Plasmaproben wurden aufgetaut, extrahiert, derivatisiert und der Plasmaanteil von 2ME wurde durch Gaschromatografie gegen bekannte 2ME-Standards quantifiziert. Ein Tag nach der Injektion betrug der Plasma-2ME-Anteil 6,5 ng/ml und fiel am Tag drei auf 5 ng/ml. 2ME-Plasmakonzentrationen nahmen dann zwischen Tag drei und Tag sieben zu und blieben bis zum Tag 14 bei 8 ng/ml. Die Plasmakonzentrationen des Wirkstoffs nahmen dann zwischen Tag 14 und Tag 28 stetig auf eine Endkonzentration von 2 ng/ml an Tag 28 ab.

2. Beispiel. Verkapselung von 2-Hydroxyöstradiol in Poly-(lactid-co-glycolid)-Mikrosphären

[0075] Ein Mikrosphärenpräparat wurde durch Lösen von 1067 mg 2-Hydroxyöstradiol (2HE) und 1600 mg PLGA (50:50 Lactid:Glycolid, Mw 27 kD) in 28 ml Ethylacetat hergestellt. Die Mikrosphären wurden gemäß den Angaben im 1. Beispiel hergestellt. Die Kernladung wurde mit 38,3 gemessen, 96 % Verkapselungseffizienz.

[0076] Mikrosphären, die 5 mg 2HE entsprachen, wurden subkutan in Ratten injiziert. In vorgegebenen Zeitabständen wurden Tiere geopfert und die Injektionsstellen wurden seziert, um die Mikrosphären wiederzugewinnen. Gleichzeitig wurden den Tieren Blutproben entnommen und das Plasma wurde getrennt und bei -80°C eingefroren. Die wiedergewonnenen Mikrosphären wurden durch Zentrifugation gereinigt und lyophilisiert. Sorgfältig abgewogene Proben wurden in DMSO gelöst und der 2HE-Gehalt der wiedergewonnenen Mikrosphären wurde durch HPLC-Analyse quantifiziert. Die Freisetzung von Östradiolmetaboliten in vivo wurde indirekt durch Subtrahieren der in den Mikrosphären nach einer In-vivo-Inkubation verbleibenden Wirkstoffmenge von der anfänglichen Wirkstoffmenge in den Mikrosphären berechnet. 32 % des verkapselten Wirkstoffs wurden innerhalb von einem Tag nach der Injektion freigesetzt und etwa 50 % der Dosis waren nach drei Tagen freigesetzt. Der verbleibende Wirkstoff wurde zwischen Tag 3 und Tag 28 nach der Injektion stetig freigesetzt.

[0077] Nach dem Sammeln der Proben der jeweiligen Zeitpunkte wurden die eingefrorenen Plasmaproben aufgetaut, extrahiert, derivatisiert und die Plasmaanteile von 2HE und 2ME wurden durch Gaschromatografie gegen bekannte Standards quantifiziert. Das Plasma-Pharmakokinetikprofil hatte 24 Stunden nach der Injektion einen Blutanteil von etwa 20 ng/ml 2HE, der bis zu Tag 7 nach der Injektion stetig abnahm. Der Blutanteil von 2HE war zwischen Spurenanteilen und 2 ng/ml zwischen Tag 7 und Tag 28 nachweisbar. Ein geringerer Burst-Anteil von 2ME (11,5 ng/ml) wurde einen Tag nach der Injektion nachgewiesen, der bis zu Tag 7 allmählich auf 2 ng/ml zurückging, wobei dieser Wert zwischen Tag 7 und Tag 28 aufrecht gehalten wurde.

3. Beispiel. Verkapselung von 2HE in PLGA-Mikrosphären durch ein selektives Lösungsmittelextraktionsverfahren

[0078] Poly-D,L-(milch-co-glycol)säure in einem Molverhältnis von 50:50 (PLGA 5050 2,5M) mit einer durchschnittlichen relativen Molekülmasse von 27 kD wurde in Ethylacetat auf eine Konzentration von 20 % w/v gelöst. Eine zweite Lösung wurde durch Lösen von 300 mg 2-Hydroxyöstradiol in 1,2 ml Dimethylsulfoxid (DMSO) hergestellt. Die beiden Lösungen wurden durch Verwirbeln vermischt, woraus eine einzelne, klare Lösung entstand. Diese organische Lösung wurde mit einer wässrigen Phase aus 17,5 ml Wasser mit 700 mg Polyvinylalkohol, 2,5 ml Ethylacetat und 4 ml DMSO in einem 50-ml-Becher emulgiert, indem mit einem 1-Zoll-Magnetstab mit 650 rpm 5 Minuten lang bei 4°C gerührt wurde. Die resultierende Emulsion wurde langsam in einen 600-ml-Becher mit 240 ml Wasser, 48 ml DMSO und 6 ml Ethylacetat bei 4°C gegossen. Man ließ die Partikelsuspension auf Raumtemperatur unter Umgebungsbedingungen erwärmen und das Ethylacetat über Nacht von der Emulsion extrahieren/verdampfen. Die gehärteten Partikel wurden filtriert, mit Wasser gewaschen und vor dem Bestimmen der Kernladung luftgetrocknet.

[0079] Getrocknete Mikropartikel von jedem Präparat wurden in DMSO solubilisiert und durch HPLC gegen 2HE-Standards quantifiziert. Der 2HE-Gehalt lag bei 13,1 %. Die Verkapselungseffizienz betrug 66 %.

[0080] Mikrosphären, die 5 mg 2HE entsprachen, wurden subkutan in Ratten injiziert. Zu vorbestimmten Zeitpunkten wurden die Tiere geopfert und die Injektionsstellen wurden sezirt, um die Mikrosphären wiederzugewinnen. Gleichzeitig wurden Blutproben von den Tieren genommen und das Plasma wurde getrennt und bei -80°C eingefroren. Die wiedergewonnenen Mikrosphären wurden durch Zentrifugation gereinigt und lyophilisiert. Sorgfältig abgewogene Proben wurden in DMSO gelöst und der 2HE-Gehalt der wiedergewonnenen Mikrosphären wurde durch HPLC-Analyse quantifiziert. Die Freisetzung von Östradiolmetaboliten in vivo wurde indirekt durch Subtrahieren der in den Mikrosphären nach einer In-vivo-Inkubation verbleibenden Wirkstoffmenge von der anfänglichen Wirkstoffmenge in den Mikrosphären berechnet. Die In-vivo-Freisetzung von 2HE war durch eine schlagartige Freisetzung von 38 % der Dosis im Laufe des ersten Tages nach der Injektion, gefolgt von einer kumulativen Freisetzung von 55 % an Tag 3 nach der Injektion gekennzeichnet. 30 % der Gesamtdosis wurden zwischen Tag 3 und Tag 28 freigesetzt, wobei insgesamt 88 der Dosis in 4 Wochen freigesetzt wurden.

[0081] Nach dem Sammeln der Proben der jeweiligen Zeitpunkte wurden die gefrorenen Plasmaproben aufgetaut, extrahiert, derivatisiert und die Plasmaanteile von 2HE und 2ME wurden durch Gaschromatografie gegen bekannte Standards quantifiziert. Die schlagartige Freisetzung von 38 entsprach einem Plasmaanteil von 4 ng/ml 2HE, der zwischen Tag 3 und Tag 28 auf Spurenanteile zurückging. Der Plasmaanteil von 2ME erreichte seinen Höchstwert bei 5,5 ng/ml einen Tag nach der Injektion und ging auf 2 ng/ml an Tag 3 zurück. Dieser Anteil wurde zwischen Tag 3 und Tag 28 aufrecht gehalten.

4. Beispiel. Feststoff-in-Öl-in-Wasser-Verkapselung von 2 ME

[0082] DMSO-Lösungen von 2 ME mit einer Konzentration von 25 w/v wurden in Flüssigstickstoff abschreckgefroren, um eine Kristallisation des Wirkstoffs zu verhindern. Ein-ml-Aliquoten der gefrorenen 2ME-DMSO-Lösung wurden mit einem kalten Mörser und Stößel zerstoßen, anschließend mit 10 ml einer gekühlten 20 % w/v PLGA-50:50-(Lactid:Glycolid, durchschnittliche MW 53 kD)-Lösung in Ethylacetat mit einem Fisher Powergen 125 Rotor/Stator-Homogenisator, der mit einer gekühlten 7-mm-Spitze ausgestattet war, mit 33.000 rpm vermischt. Es wurden zwei Präparate hergestellt; das erste wurde emulgiert, wobei alle Komponenten auf -20°C gekühlt wurden, das zweite wurde auf 4°C gekühlt. Beide Temperaturen hielten die 2ME-DMSO-Lösung im gefrorenen Zustand. Die Feststoff-in-Öl-Emulsionen wurden zu 30 ml destilliertes Wasser mit 4 % w/v Polyvinylalkohol und 3,5 ml Ethylacetat bei 4°C in einem 100-ml-Becher unter Rühren mit 600 rpm mit einem 1-Zoll-Rührstab gegeben. Die resultierende Feststoff-in-Öl-in-Wasser-Emulsion wurde langsam in 250 ml eiskaltes Wasser in einem 600-ml-Becher gegossen, das 10 ml Ethylacetat enthielt, und mit einem 1,5-Zoll-Rührstab mit 400 rpm gerührt. Der Extraktionsbecher wurde im Laufe der Mikrosphärenhärtung in ein Eisbad gegeben. Der Becher wurde über Nacht gerührt, um die Lösungsmittel von den Mikrosphären zu extrahieren, wobei man die Temperatur langsam auf 22°C steigen ließ, während das Eis schmolz und das Wasser sich unter Umgebungsbedingungen erwärmte.

[0083] Die Partikel wurden durch Filtration aufgefangen, mit Wasser gewaschen und lyophilisiert. Getrocknete Partikel wurden in DMSO gelöst und der 2ME-Gehalt wurde durch HPLC gemessen. Die Verkapselungseffizienz der Feststoff/Öl/Wasser-Technik bei -20°C und 4°C ist aus Tabelle I ersichtlich.

Tabelle I. 2ME-Verkapselungseffizienz mit der Feststoff-in-Öl-in-Wasser-Technik

Emulgiertemperatur °C	Nominelle Kernladung %	Gemessene Kernladung %	Verkapselungseffizienz %
-20	11,1	6,7	60
4	11,1	9,3	84

[0084] Die In-vitro-Freisetzung von 2ME wurde durch Zugabe von 12,5 mg Mikrosphären zu 100 ml eines wässrigen 50%igen Ethylalkohols gemessen. Aliquoten wurden zu vorbestimmten Zeitabständen entfernt und 2ME-Konzentrationen wurden durch UV-Absorbanzspektroskopie gemessen. Das bei -20°C emulgierte Präparat setzte 15 % des verkapselten Wirkstoffs in linearer Weise über 6 Stunden frei. Im Gegensatz dazu setzte die bei 4°C emulgierte Formulierung 7 % des verkapselten Wirkstoffs innerhalb von 30 Minuten frei, wobei die Freisetzungsrates zwischen 30 Minuten und 7 Stunden stetig abnahm.

5. Beispiel. Eutektisches Gemisch von 2ME und Menthol

[0085] Zur chronischen Verabreichung niedrig dosierter Wirkstoffe ist ein transdermales Patch möglicherweise wiederholten Injektionen von PLGA-Mikrosphären vorzuziehen. Zwei Haupthindernisse für die transdermale Verabreichung sind die Formulierung eines stabilen, hochkonzentrierten Wirkstoffreservoirs und irgendeines Mechanismus zur Verbesserung der Hautdurchlässigkeit. Kaplun-Frischoff und Touitou (1997) J. Pharm. Sci. 86:1394-1399 (Testosteron-Hautpermeationsverbesserung durch Menthol durch die Bildung eines Eutektikums mit Wirkstoff und Interaktion mit Hautlipiden) fanden, dass Testosteron mit Menthol, das ein bekannter Hautdurchlässigkeitsverbesserer ist, ein eutektisches Gemisch bildete. Da 2ME jedoch eine weit geringere Löslichkeit in Alkohol hat als Testosteron, ist die Bildung eines eutektischen Gemischs aus 2ME und Menthol keine offensichtliche Ausweitung der aktuellen Technik.

[0086] 187,6 mg Menthol wurden mit einem Mörtel und Stößel mit 121,3 mg 2ME fünf Minuten lang vermahlen, um einen homogenen, wachsartigen Feststoff zu bilden. 1,2 mg dieses Gemischs wurden hermetisch in einer Aluminiumpfanne verschlossen und in das Probenfach eines TA Instruments Q10 Differentialkalorimeters bei 25°C geladen. Die Probe wurde von 25 bis 160°C bei 10°C/min. gescannt. Ein endothermer Peak erster Ordnung wurde bei einer Anfangstemperatur von 31,47°C festgestellt. Dieser Peak entspricht keiner der reinen Verbindungen (Menthol 41,77°C, 2ME 187,36°C) und stimmt mit der Bildung einer separaten, eutektischen Phase überein. Die transdermale Zuführung des Östradiolmetabolits wird voraussichtlich durch das eutektische Gemisch mit Menthol verbessert, da das Gemisch bei Körpertemperatur flüssig ist.

6. Beispiel. Durch Sprühtrocknung hergestellte 3-Benzoyl-2-methoxyöstradiol-Mikrosphären

[0087] 536 mg 3-Benzoyl-2-methoxyöstradiol und 1250 mg PLGA (50:50 Lactid:Glycolid, 27 kD Mw) wurden in 25 ml Methylenchlorid gelöst. Die Lösung wurde mit 3 ml/min. durch den Einlasszerstäuber eines Buchi Mini Spray Dryer Modell B-191 gepumpt. Die Geräteeinstellungen waren wie folgt: Einlasstemperatur, 50°C; Runlasstemperatur, 43°C; Aspirator, 80 %; Zerstäuberluftstrom, 600 ml/min. Partikel wurden aufgefangen und durch Rasterelektronenmikroskopie (06/18/02) untersucht. Die Partikelgröße reichte von 0,2 bis 3 µm. Es wurden keine Wirkstoffkristalle beobachtet, was auf eine effiziente Verkapselung des Wirkstoffs schließen ließ.

7. Beispiel. 2-Methoxyöstradiol-Mikrosphären mit einem Antioxydationsmittel, hergestellt durch Extrusion durch einen Festbettemulgator

[0088] 800 mg PLGA (50:50 Lactid:Glycolid, 13 kD durchschnittliche Mw), 400 mg 2-Methoxyöstradiol und 8,2 mg BHT wurden in 14 ml Ethylacetat bei 65°C gelöst. Diese Ölphase wurde mit einer wässrigen Phase emulgiert, die aus 1 % w/v Polyvinylalkohol in einem Verhältnis von 1 Teil Öl zu 1,5 Teilen Wasser bestand. Die resultierende Emulsion wurde entweder direkt mit 3 ml/min. in ein Lösungsmittel-extraktionsmedium gepumpt, das aus 800 ml eines 0,5 % w/v Polyvinylalkohols bestand, oder etwa 10 Minuten lang bei 65°C gehalten, bevor die Emulsion zum Extraktionsmedium gegeben wurde. Man ließ die Mikrosphären in dem Extraktionsmedium härten, indem 2 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt wurde. Die gehärteten Mikrosphären wurden durch Zentrifugation aufgefangen, mit destilliertem Wasser gewaschen und lyophilisiert.

[0089] Getrocknete Mikropartikel von diesem Präparat wurden in DMSO solubilisiert und durch HPLC gegen 2ME-Standards quantifiziert. Der 2ME-Gehalt lag bei 33,2 %. Die Verkapselungseffizienz lag bei 97 %. Der

BHT-Gehalt der Mikrosphären wurde im gleichen Assay gegen bekannte BHT-Standards quantifiziert. Die BHT-Ladung betrug 0,7 Gew.-%, was einer Verkapselungseffizienz von 100 % für das Konservierungsmittel entsprach.

8. Beispiel. Durch temperaturmodulierte Lösungsmittlextraktion hergestellte 2-Methoxyöstradiol-Mikrosphären

[0090] 1600 mg PLGA (50:50 Lactid:Glycolid, 13 kD Mw) und 805 mg 2-Methoxyöstradiol wurden in 28 ml Ethylacetat bei 65°C gelöst. Diese Ölphase wurde mit einer wässrigen Phase emulgiert, die aus 1 % w/v Polyvinylalkohol in einem Verhältnis von 1 Teil Öl zu 20 Teilen Wasser bestand. Die resultierende Emulsion wurde durch eine in Eiswasser eingetauchte isolierte Röhre gepumpt. Die Löslichkeit von Ethylacetat in Wasser nimmt mit abnehmender Temperatur zu, so dass die gekühlte wässrige Phase ein Reservoir mit zunehmender Kapazität für das organische Lösungsmittel wird. Die gekühlte Mikrosphärensuspension wurde in einen Becher gepumpt und die Mikrosphären wurden durch 3-stündiges Rühren bei Raumtemperatur gehärtet. Die gehärteten Mikrosphären wurden durch Zentrifugation aufgefangen, mit destilliertem Wasser gewaschen und lyophilisiert.

[0091] Getrocknete Mikropartikel von diesem Präparat wurden in DMSO solubilisiert und durch HPLC gegen 2ME-Standards quantifiziert. Der 2ME-Gehalt lag bei 27,3 %. Die Verkapselungseffizienz betrug 82 %.

9. Beispiel. Stabilisierung von 2-Methoxyöstradiol in Mikrosphären durch Annealing

[0092] 2ME enthaltende Mikrosphären wurden gemäß den Angaben im obigen 6. Beispiel hergestellt. Das fertige Mikrosphärenpulver wurde mit einem 10fachen Gewichtsüberschuss an granulöser Saccharose vermischt. Die Feststoffsuspension wurde in einer Polypropylenröhre versiegelt und in ein 65°C Wasserbad 3 Stunden lang eingetaucht, um eine Kristallisation von verkapseltem 2-Methoxyöstradiol zu ermöglichen. Nach dem Annealing wurde die Röhre aus dem Temperaturbad genommen und es wurde genügend Wasser zugegeben, um die Saccharose zu lösen. Die Mikrosphären wurden dreimal mit Wasser durch Zentrifugation gewaschen und lyophilisiert. Eine Differentialkalorimetrie an einer Probe der einer Annealing-Behandlung unterzogenen Mikrosphären bestätigte, dass > 99 % des Wirkstoffs kristallisiert worden waren.

[0093] Proben der Mikrosphären wurden vor und nach dem Annealing in Glasphiole geladen, in Umgebungsatmosphäre versiegelt und in temperaturgeregelte Inkubatoren bei 23°C oder 38°C gegeben. Die Phiole wurden aus den Inkubatoren in vorbestimmten Zeitabständen entfernt und der Gehalt und die Reinheit von 2ME in den Mikrosphären wurden analysiert. Die amorphen Wirkstoff enthaltende Formulierung baute bei einer Lagerung bei Raumtemperatur um mehr als 13 % ab, wohingegen die Formulierung mit kristallinem Wirkstoff im Laufe einer Inkubation von 58 Tagen bei 38°C nicht abbaute.

Tabelle II. Lagerungsbeständigkeit von kristallinem und amorphem 2ME in Mikrosphären

Charge Nr.	2ME Kernladung % w/w	% kristallines 2ME, Zeit Null	Lagerung	Reinheit
050-049-SE	26,9	17	27 Tage, 23°C	87,4 %
041-158-B	30,4	99,7	58 Tage, 38°C	99,3 %

10. Beispiel. Durch Verkapselung mikronisierter Kristalle hergestellte 2-Methoxyöstradiol-Mikrosphären

[0094] 2-Methoxyöstradiol-Wirkstoffsubstanz wurde mit einem Mörser und Stößel vermahlen, bis die Partikel einen Durchmesser von weniger als 5 µm hatten. Die Partikelgröße wurde durch Rasterelektronenmikroskopie überwacht. Der mikronisierte Wirkstoff, 129 mg, wurde zu 1 ml einer 30 w/v Lösung von PLGA (50:50 Lactid:Glycolid, 27 kD Mw) in Ethylacetat gegeben. Der Wirkstoff wurde in der Polymerlösung mit einem Sondenbeschaller suspendiert, wobei das Gefäß auf Eis gesetzt wurde. Die Suspension wurde tropfenweise zu 50 ml eines wässrigen 4 % w/v Polyvinylalkohols in einem 150 ml Becher unter Rühren mit 800 rpm gegeben. Die Mikrosphärensuspension wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die gehärteten Mikrosphären wurden durch Zentrifugation aufgefangen, mit destilliertem Wasser gewaschen und lyophilisiert. Eine chromatografische Analyse einer Probe des endgültigen Mikrosphärenpräparats, gelöst in Dimethylsulfoxid und gemessen gegen bekannte 2ME-Standards zeigte, dass die Kernladung 28,8 Gew.-% 2-Methoxyöstradiol betrug, was eine Verkapselungseffizienz von 96 % ergab.

11. Beispiel. Herstellung von transdermalen 2-Methoxyöstradiol-Patchformulierungen

[0095] 2-Methoxyöstradiol-Wirkstoffsubstanz wurde in verschiedenen druckempfindlichen Klebstoffen (National Starch) transdermalen Güte suspendiert und auf polyethylen- und aluminiumdampfbeschichtete Polyesterunterlagen (3M) mit einem Gardco „Microm“ Filmapplicator aufgebracht. Die Beschichtungen wurden über Nacht in einem Abzugsschrank getrocknet, die Trocknung wurde in einem 80°C Ofen über einen Zeitraum von 2-4 Stunden vollendet.

12. Beispiel. Herstellung von 2-Methoxyöstradiol-3,17-diacetat-Mikrosphären

[0096] 400 mg Poly-(lactid-co-glycolid) (PLGA) mit einem Molverhältnis zwischen Lactid- und Glycolidmonomer von 1:1 und mit einer Grundviskosität von 0,25 dl/g und einer durchschnittlichen relativen Molekülmasse von 27 kD (PLGA 5050 2,5M, Medisorb, USA) und 200 mg 2-Methoxyöstradiol-3,17-diacetat wurden in 7 ml Ethylacetat durch Rühren bei 23°C gelöst. Diese Ölphase wurde langsam in 20 ml eines wässrigen Polyvinylalkohols (durchschn. rel. Molekülmasse 100 kD, 1 % w/v) in einem 50-ml-Becher mit einem Magnetstab mit einer Rührdrehzahl von 450 rpm gegossen. Das Gemisch wurde folglich 5 Minuten lang emulgiert, woraufhin die Emulsion schnell in 150 ml eines wässrigen 1 % w/v Polyvinylalkohols gegossen wurde. Man ließ die Mikrosphären 3 Stunden lang durch Magnetrühren bei Raumtemperatur und Umgebungsdruck härten. Die gehärteten Partikel wurden aufgefangen und mit Wasser durch Zentrifugation gewaschen und dann lyophilisiert.

[0097] Ein zweites Präparat wurde durch Lösen von jeweils 400 mg PLGA und 2-Methoxyöstradiol-3,17-diacetat in 7 ml Ethylacetat hergestellt. Die Emulgierung fand wie oben beschrieben statt.

[0098] Eine Probe getrockneter Mikrosphären von jedem Präparat wurde in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst und das in den Proben vorhandene 2ME-Diacetat wurde durch HPLC-Analyse gegen Standardkonzentrationen des Wirkstoffs quantifiziert. Wirkstoffladung und Verkapselungseffizienz sind in Tabelle III aufgeführt.

Tabelle III. Wirkstoffladung für 2-Methoxyöstradiol-3,17-diacetat-Mikrosphären

Charge Nr.	Nominelle Ladung	Gemessene Ladung	Verkapselungseffizienz
041-034-A	33,3 %	29,8 %	89 %
041-034-B	50,0 %	44,1 %	88 %

[0099] Mikrosphären von jedem Präparat, die 5 mg 2ME-Diacetat entsprachen, wurden zu 100 ml eines wässrigen 50%igen Alkohols gegeben. Die Gefäße wurden mit 100 rpm bei 23°C 7 Stunden lang gerührt. Proben des Freisetzungsmediums wurden in Abständen entnommen und die Konzentration des Wirkstoffs wurde durch UV-Absorbanz bei 287 nm gemessen. Charge 041-034-A setzte 5 % des verkapselten Wirkstoffs in 1 Stunde frei, mit einer Gesamtfreisetzung von 8 % in 7 Stunden im In-vitro-Freisetzungsassay. Im Gegensatz dazu wurden 8 des verkapselten Wirkstoffs innerhalb von 30 Minuten von Charge 041-034-B freigesetzt, wobei anschließend insgesamt 24 % in 7 Stunden freigesetzt wurden.

[0100] Mikrosphären entsprechend 5 mg 2ME-Diacetat der oben beschriebenen Charge 041-034-B wurden subkutan in Sprague-Dawley-Ratten injiziert. Blut wurde regelmäßig über einen Zeitraum von 4 Wochen entnommen. Unmittelbar nach der Entnahme wurde Plasma getrennt und bei -80°C gefroren gelagert. Nach dem Sammeln der Proben von den jeweiligen Zeitpunkten wurden die gefrorenen Plasmaproben aufgetaut, extrahiert, derivatisiert und der Plasmaanteil von 2ME wurde durch Gaschromatografie gegen bekannte 2ME-Standards quantifiziert. Das Pharmakokinetikprofil war durch eine stetige Zunahme auf 2 ng/ml zwischen Tag 0 und Tag 3 gekennzeichnet. Die Plasmaanteile wurden zwischen Tag 3 und Tag 28 zwischen 1 und 3 ng/ml gehalten. Interessanterweise gab es keine große schlagartige Freisetzung von 2-Methoxyöstradiol im Laufe der ersten drei Tage nach der Injektion von Mikrosphärenformulierungen mit der Diacetatprodroge.

[0101] Alle hierin offenbarten und beanspruchten ZUSAMMENSETZUNGEN, VERFAHREN und VORRICHTUNGEN können ohne unnötige Experimente im Hinblick auf die vorliegende Offenbarung hergestellt und ausgeführt werden. Es ist offensichtlich, dass bestimmte Agentien, die sowohl chemisch als auch physiologisch verwandt sind, die hierin beschriebenen Agentien ersetzen können, während die gleichen oder ähnliche Ergebnisse erzielt werden.

Patentansprüche

1. Stoffzusammensetzung, die Folgendes umfasst:

- (a) einen Östradiolmetabolit, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxyöstradiolen und Methoxyöstradiolen; und
- (b) ein Material, das eine nachhaltige Freisetzung erbringt, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Poly(d,1-lactid-co-glycolid) und Polylactid.

2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das genannte Material, das eine nachhaltige Freisetzung erbringt, ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Mikropartikeln, Nanopartikeln, Patches, Kristallen, Gelen, Stäben, Stints, Pellets, Scheiben, Pastillen, Plättchen, Kapseln, Filmen, Mikrokapseln, Nanokapseln, Hydrogelen, Liposomen, Implantaten und Vaginalringen.

3. Zusammensetzung nach Anspruch 2, wobei die genannten Mikropartikel einen Durchmesser zwischen 1 und 200 Mikrometern haben.

4. Zusammensetzung nach Anspruch 2, wobei die genannten Nanopartikel einen Durchmesser zwischen 20 und 2000 Nanometern haben.

5. Zusammensetzung nach Anspruch 2, wobei die genannten Mikropartikel oder Nanopartikel ferner ein Additiv umfassen.

6. Zusammensetzung nach Anspruch 5, wobei das genannte Additiv ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus butyliertem Hydroxytoluol, Propylgallat, einem Tocopherol, Ascorbylpalmitat, einem Antioxydationsmittel, einem Freisetzungsmodifizierer und einem Puffer.

7. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei der genannte Östradiolmetabolit ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus 2-Methoxy-östradiol, 2-Hydroxy-östradiol, 4-Methoxy-östradiol und 4-Hydroxy-östradiol.

8. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei der genannte Östradiolmetabolit transdermal zugeführt wird.

9. Zusammensetzung nach Anspruch 8, wobei die genannte transdermale Zuführung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus bukkaler, oraler, okularer, nasaler, rektaler und vaginaler Zuführung.

10. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei der genannte Östradiolmetabolit eine Prodroge ist.

11. Zusammensetzung nach Anspruch 10, wobei die genannte Prodroge ein Ester ist.

12. Zusammensetzung nach Anspruch 11, wobei der genannte Ester ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus 3-Benzoyl-2-methoxyöstradiol; 17-Benzoyl-2-methoxy-östradiol; 17-Acetyl-2-methoxy-östradiol; 3-Acetyl-2-methoxy-östradiol; 3,17-Dibenzoyl-2-methoxy-östradiol; 3,17-Diacetyl-2-methoxy-östradiol; 3-Benzoyl-4-methoxy-östradiol; 17-Benzoyl-4-methoxy-östradiol; 17-Acetyl-4-methoxy-östradiol; 3-Acetyl-4-methoxy-östradiol; 3,17-Dibenzoyl-4-methoxy-östradiol; 3,17-Diacetyl-4-methoxy-östradiol; 3-Benzoyl-2-hydroxy-östradiol; 17-Benzoyl-2-hydroxy-östradiol; 17-Acetyl-2-hydroxy-östradiol; 3-Acetyl-2-hydroxy-östradiol; 3,17-Dibenzoyl-2-hydroxy-östradiol; 3,17-Diacetyl-2-hydroxy-östradiol; 2,3-Dibenzoyl-2-hydroxy-östradiol; 2,17-Dibenzoyl-2-hydroxy-östradiol; 2,17-Diacetyl-2-hydroxy-östradiol; 2,3-Diacetyl-2-hydroxy-östradiol; 2,3,17-Tribenzoyl-2-hydroxy-östradiol; 2,3,17-Triacetyl-2-hydroxy-östradiol; 3-Benzoyl-4-hydroxy-östradiol; 17-Benzoyl-4-hydroxy-östradiol; 17-Acetyl-4-hydroxy-östradiol; 3-Acetyl-4-hydroxy-östradiol; 3,17-Dibenzoyl-4-hydroxy-östradiol; 3,17-Diacetyl-4-hydroxy-östradiol; 3,4-Dibenzoyl-4-hydroxy-östradiol; 4,17-Dibenzoyl-4-hydroxy-östradiol; 4,17-Diacetyl-4-hydroxy-östradiol; 3,4-Diacetyl-4-hydroxy-östradiol; 3,4,17-Tribenzoyl-4-hydroxy-östradiol; 3,4,17-Triacetyl-4-hydroxy-östradiol.

13. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei der genannte Östradiolmetabolit in einem eutektischen Gemisch ist.

14. Zusammensetzung nach Anspruch 1, die ferner ein hydrophiles Polymer umfasst.

15. Zusammensetzung nach Anspruch 14, wobei das genannte hydrophile Polymer ausgewählt ist aus der

Gruppe bestehend aus Poly(ethylenglykol), Poly(propylenglykol) und Copolymeren von Poly(ethylenglykol) und Poly(propylenglykol).

16. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei der genannte Östradiolmetabolit derivatisiert ist.
17. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das genannte Derivat ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Dicarbonsäureverbindungen, zweiwertigen Säuren, polaren Verbindungen und ionischen Verbindungen.
18. Zusammensetzung nach Anspruch 17, wobei eine solche Dicarbonsäureverbindung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Oxal-, Malon-, Malein-, Bernstein-, Glutar-, Adipin-, Pimelin- und Pamoiksäure.
19. Zusammensetzung nach Anspruch 17, wobei solche zweiwertigen Säuren ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Bernstein-, Glutar-, Malein-, Malon- und Oxalsäure.
20. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-19, wobei die Zusammensetzung zur Behandlung eines Individuums von Nutzen ist.
21. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei der Östradiolmetabolit ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Katecholöstrogenen und Methoxyöstradiolen.
22. Zusammensetzung nach Anspruch 21, wobei das genannte Material, das eine nachhaltige Freisetzung erbringt, ein Mikropartikel oder Nanopartikel ist, der aus einem biologisch abbaubaren Polymer besteht, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Poly(d,l-lactid-co-glycolid) und Polylactid.
23. Zusammensetzung nach Anspruch 21, wobei der genannte Östradiolmetabolit ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus 2-Methoxy-östradiol, 2-Hydroxy-östradiol, 4-Methoxy-östradiol und 4-Hydroxy-östradiol.
24. Zusammensetzung nach einem der vorherigen Ansprüche zur Verwendung als Medikament.
25. Verwendung einer Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-23 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von oder Vorbeugung gegen Krebs, Fettleibigkeit, Stoffwechselsyndrom, Gefäß- oder Nierendysfunktion, Nierenerkrankung im Endstadium, Asthma, Pilzinfektion oder Diabetes Typ II.
26. Verfahren zur Herstellung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-19, das das Herstellen der genannten Zusammensetzung durch Sprühtrocknen einer Lösung des Polymers und Östradiolmetabolits, gelöst in einem organischen Lösungsmittel, beinhaltet.
27. Verfahren zur Herstellung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-19, das das Herstellen der genannten Zusammensetzung durch Nassemulgierung, einschließlich einer kontinuierlichen und diskontinuierlichen Phase, gefolgt von einer Lösungsmittelbeseitigung beinhaltet.
28. Verfahren nach Anspruch 27, wobei die genannte diskontinuierliche Phase Östradiolmetabolite und Polymer enthält.
29. Verfahren nach Anspruch 28, das ferner ein Additiv umfasst.
30. Verfahren nach Anspruch 29, wobei das genannte Additiv ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus einem Antioxydationsmittel, einem Puffer und einem Freisetzungsmodifizierer.
31. Verfahren nach Anspruch 27, wobei die genannte diskontinuierliche Phase ein organisches Lösungsmittel enthält.
32. Verfahren nach Anspruch 27, wobei die genannte kontinuierliche Phase ferner einen Emulgator umfasst.
33. Verfahren nach Anspruch 32, wobei der genannte Emulgator ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Phospholipiden, Lecithin, ionischen Tensiden, nichtionischen Tensiden, Poloxameren, Polymeren, Polyvinylpyrrolidon und Polyvinylalkohol.

34. Verfahren nach Anspruch 33, wobei der genannte Emulgator Polyvinylalkohol ist.

35. Verfahren zur Herstellung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-19, das das Herstellen der genannten Zusammensetzung durch selektive Extraktion eines Ölphasenlösungsmittels beinhaltet.

36. Verfahren zur Herstellung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1-19, das das Herstellen der genannten Zusammensetzung durch einen Emulsionsprozess beinhaltet.

37. Verfahren nach einem der Ansprüche 26-36, wobei die genannte Zusammensetzung durch einen Prozess hergestellt wird, der einen Annealing-Schritt beinhaltet.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen