



H U 0 0 0 2 2 0 2 1 5 B

(19) Országkód

HU**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG****MAGYAR
SZABADALMI
HIVATAL****SZABADALMI
LEÍRÁS**

(11) Lajstromszám:

220 215 B

- (21) A bejelentés ügyszáma: P 95 01812
(22) A bejelentés napja: 1993. 12. 23.
(23) Módosítási elsőbbség: 1994. 07. 01.
(30) Elsőbbségi adatok:
9226905.9 1992. 12. 24. GB
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/GB 93/02646
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 94/14426

(51) Int. Cl.⁷**A 61 K 31/12**

A 61 K 9/14

A 61 P 33/02

- (40) A közzététel napja: 1995. 12. 28.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 2001. 11. 28.

(72) Feltaláló:
Deam, Alan Roy, Dartford, Kent (GB)

(73) Szabadalmas:
The Wellcome Foundation Ltd., London (GB)

(74) Képviselő:
Karácsonyi Béla, ADVOPATENT Szabadalmi
Iroda, Budapest

(54)

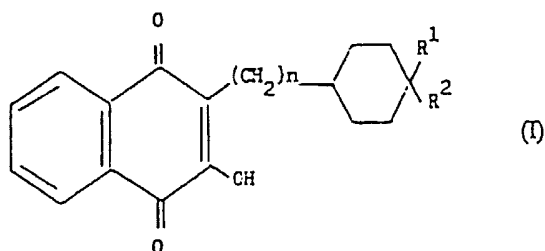
**Mikrofluidizált atovaquon részecskék,
ezeket tartalmazó gyógyszerészeti készítmények
és eljárás előállításukra****KIVONAT**

A találmány tárgya mikrofluidizált atovaquon részecskék és előállítási eljárásuk. Közelebbről, a találmány tárgya fokozott biológiai hozzáférhetőségű mikrofluidizált

atovaquon részecskéket tartalmazó gyógyszerészeti készítmények, valamint gyógyászati alkalmazásuk.
A hatóanyag ismert protozoa elleni szer.

Jelen találmány mikrofluidizált 2-[4-(klór-fenil)-ciklohexil]-3-hidroxi-1,4-naftokinon részecskékre, valamint előállítási eljárásukra vonatkozik. Közelebbről, a találmány tárgya mikrofluidizált 2-[4-(klór-fenil)-ciklohexil]-3-hidroxi-1,4-naftokinon („atovaquon”) részecskéket tartalmazó gyógyszerészeti készítmény és gyógyászati alkalmazása.

Az atovaquont korábban például a 0123238 számú európai szabadalmi leírásban és az 5 053 432 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban (melyet hivatkozásul említünk) írták le. Utóbbi az (I) képlet szerinti, 2-es helyzetben szubsztituált 3-hidroxi-1,4-naftokinonokra



melyben R¹ jelentése hidrogénatom, R² jelentése 1–6 szénatomos alkoxycsoport, aralkoxi-csoport, C_{1–6}-alkil-C_{1–6}-alkoxycsoport, egy vagy több halogénatommal vagy 1–6 szénatomos alkilcsoporttal szubsztituált fenilcsoport, halogénatom vagy perhalogén-C_{1–6}-alkilcsoport; vagy R¹ és R² jelentése egyaránt 1–6 szénatomos alkilcsoport vagy fenilcsoport, és n értéke 0 vagy 1; valamint fiziológiailag elfogadható sóikra vonatkozik. A vegyületekről úgy tartják, hogy protozoa-ellenes aktivitással rendelkeznek. Azokról az (I) képlet szerinti vegyületekről, melyekben n értéke 0, úgy tartják, hogy a *Plasmodium falciparum* humán malária parazita ellen, valamint *Eimeria* fajok, mint az *E. tenella* és *E. acervulina* (melyek coccidiosisot okozó organizmusok) ellen hatásosak. Azokról az (I) képlet szerinti vegyületekről, melyekben n értéke 1, úgy tartják, hogy a *Theileria* nemzetségbe tartozó protozoák, különösen a *T. annulata* és a *T. parva* ellen hatásosak. Az (I) képlet szerinti vegyületek közül azt nevezzük atovaquonnak, melyben n értéke 0, R¹ jelentése hidrogénatom, és R² jelentése 4-klór-fenilcsoport.

Az EP 0362996 számú európai szabadalomban az atovaquon *Pneumocystis carinii* pneumonia kezelésében és/vagy megelőzésében való alkalmazását írják le.

Az atovaquon Toxoplasmosis és Cryptosporidiosis elleni alkalmazását a 0445141 számú, illetve a 0496729 számú európai szabadalmi bejelentésben írják le.

Az atovaquon gyógyszerként való hatását korlátozza biológiai hozzáférhetősége. Ennek megfelelően, jelen találmány egyik tárgya jobb biológiai hozzáférhetőségű atovaquon.

Felfedeztük, hogy az atovaquon biológiai hozzáférhetősége oly módon fokozható, hogy részecskeméretét egy bizonyos meghatározott kis mérettartományon belül biztosítjuk. Az atovaquon részecskeméretének csökkentéséhez alkalmazott hagyományos eljárások azonban a biológiai hozzáférhetőség javításához szükséges méretű részecskék előállításához sikertelennek bizonyultak.

A Microfluidiser nevű mikrofluidizáló készüléket a Microfluidics Corporation 1985 óta forgalmazza. Működési elve az alámerített folyadékúgár-technológián alapul. Elsősorban homogenizáló készülékként az élelmiszeriparban és gyógyszeriparban való alkalmazásához, például emulziók és liposzómarendszerek kialakításához tervezték, majd később a biotechnológiában sejtfeltérési célokra is alkalmazták.

Meglepő módon azt találtuk, hogy Microfluidiser alkalmazásával előállított, mikrofluidizált atovaquon részecskék a vegyület fokozott biológiai hozzáférhetőségét biztosítják. Úgy tartjuk, hogy ez a mikrofluidizált atovaquon részecskék kis méretének és szűk mérettartományának köszönhető.

A Microfluidiser működése közben a betáplálási áramot speciálisan kialakított kamrába pumpáljuk, melyben a folyadékáramok nagyon nagy sebességgel és nyomással lépnek kölcsönhatásba. A kölcsönhatási kamrában a rögzített mikrocsatornák nagy mértékben összpontosított, intenzív turbulens kölcsönhatási zónát biztosítanak, ami a kavitáció és a nyíróerők között energiafelszabadulást eredményez. Anélkül, hogy elméletekhez ragaszkodnánk, úgy gondoljuk, hogy mivel valamennyi termék dimenzionálisan rögzített energiafelszabadulási területen halad keresztül, a Microfluidiser alkalmazásával nagyobb méretazonosság és kisebb méretek érhetők el, mint a kis részecskék hagyományos előállítási módszereivel.

Ilyenformán, a találmány első tárgya kis méretű atovaquon részecskék. A részecskék előnyösen mikrofluidizált részecskék. Alkalmasan a részecskék legalább 90%-a 0,1–3 µm átmérőjű; előnyösen legalább 95%-uk 0,1–2 µm átmérőjű.

A találmány második tárgya gyógyszerészeti készítmény, amely atovaquon részecskéket és egy vagy több gyógyszerészetileg megfelelő hordozót tartalmaz, s amelyben a részecskék legalább 95%-a 0,1–2 µm átmérőjű. A részecskék előnyösen mikrofluidizáltak.

A hordozóknak abban az értelemben kell elfogadhatóknak lenni, hogy a készítmény egyéb összetevőivel kompatibilisek legyenek, és hogy a kezelt személy számára ne legyenek károsak.

A találmány harmadik tárgya eljárás mikrofluidizált atovaquon részecskék előállítására, melynek során az atovaquont folyékony vivőanyaggal olyan arányban keverjük, hogy 450 mg/ml-nél kisebb atovaquonkoncentrációjú elegyet kapjunk, s ezt az elegyet Microfluidiser készülékben legalább háromszor átáramoltatjuk, hogy az atovaquont legalább 90%-ban 0,1–3 µm átmérőjű részecskék formájában kapjuk.

A találmány további tárgya eljárás gyógyszerészeti készítmény előállítására, mely az alábbi lépésekből áll: i) az atovaquont folyékony vivőanyaggal elegyítjük, hogy olyan elegyet kapjunk, melyben az atovaquon koncentrációja 450 mg/ml-nél kisebb;

ii) az elegyet legalább háromszor Microfluidiser készüléken áramoltatjuk át, hogy mikrofluidizált készítményt hozzunk létre, melyben az atovaquon részecskék formájában van jelen, és a részecskék legalább 95%-a 0,1–2 µm átmérőjű;

iii) a mikrofluidizált készítményt egy vagy több gyógyszereszetileg elfogadható hordozóval elegyítjük.

Az elegyet alkalmasan 10–50 alkalommal áramoltatjuk át a Mikrofluidiser készüléken, például 25–30 alkalommal, előnyösen 15–25 alkalommal.

Az egyik megvalósítási módban a folyékony vivőanyag felületaktív anyag. Folyékony vivőanyagként előnyösen felületaktív oldatot alkalmazunk. Egy különösen előnyben részesített megvalósítási módban a felületaktív anyag Paloxamer 188 oldat. Egy másik előnyben részesített megvalósítási módban a gyógyszereszetileg megfelelő hordozó szuszpendálószer foglalt magában. Az alkalmas szuszpendálószer közé tartozik a metilcellulóz és a xantán mézga. Szuszpendálószerként előnyösen xantán mézgat alkalmazunk.

A gyógyszerészeti készítmények közé tartoznak az orális és parenterális (szubkután, intradermális, intramuszkuláris és intravénás) beadáshoz, valamint a nazogasztrikus csövön történő beadáshoz való készítmények. A jelen találmány tárgykörén belüli alkalmas készítmények közé tartoznak például a szilárd dóziszalakok, mint a tabletták, és a folyékony dóziszalakok, mint a szuszpenziók, melyek előnyben részesített készítmények. A készítmény alkalmas esetben egyedi dózisegységekben prezentálható, és a gyógyszerészet tudományban ismert eljárásokkal mikrofluidizált részecskékből állítható elő.

Az atovaquon biológiai hozzáférhetőségét *in vivo* mérő tesztek azt jelzik, hogy a mikrofluidizált atovaquon készítmények a korábbi készítményekkel összehasonlítva fokozott biológiai hozzáférhetőséggel rendelkeznek. Ilyenformán, a találmány további tárgya mikrofluidizált atovaquont tartalmazó készítmények gyógyszerészetben, különösen protozoa élősködők okozta fertőzések (például malária és toxoplasmosis) és *P. carinii* okozta fertőzések kezelésében és megelőzésében való alkalmazáshoz.

A találmányt a továbbiakban az alábbi, nem korlátozó jellegű példákkal mutatjuk be.

1. példa

Mikrofluidizált atovaquon részecskék előállítás

Az atovaquont korábbi leírás szerint (például az 5 053 432 számú amerikai egyesült államokbeli szabaldalmi leírás, melyet hivatkozással említünk) állítottuk elő. 600 ml, 0,25 m/V%-os Celacol M2500 oldatban 2,5 m/V% atovaquont tartalmazó elegyet készítettünk, és kontrollként 100 ml-t üvegedényben tartottunk. Mikrofluidiser 120B laboratóriumi modellt $6,24 \times 10^5$ Pa (90 Psi) nyomású pneumatikus ellátórendszerhez csatlakoztattunk, és úgy állítottuk be, hogy $1,04 \times 10^8$ Pa (15000 Psi) folyadéknyomást kapjunk. A Mikrofluidiser gépegységét, kölcsönhatási kamráját és csőhálózatát hideg vízfürdőbe merítettük, és átáramoltattuk a kölcsönhatási kamrán, miután az visszatért a betöltöttartály tetejére és oldalára. Az elegyet folyamatosan cirkuláltattuk a kölcsönhatási kamrán keresztül, és a 10., 20., 30., 45. és 60. percben mintát vettünk. A kölcsönhatási kamrákon való áthaladások számát kiszámítottuk, és az eredményeket az 1. táblázatban mutatjuk be.

1. táblázat

Minta	Mikrofluidizálás időtartama (perc)	Minta térfogata (ml)	Áthaladások száma
Kontroll	0	100	0
1.	10	105	8
2.	20	105	9–19
3.	30	110	31–35
4.	45	105	65–77
5.	60	35	142–244

A kontrollt és a mintákat 40-szeres nagyítással mikroszkóppal vizsgáltuk, és az alábbi eredményeket kaptuk:

Kontroll: változatos alak; lemezek, pálcikák, gömböszzerű formák, körülbelül $5 \times 5 \mu\text{m}$, általában maximálisan $7,5 \times 10 \mu\text{m}$ -es méret, lazán összetapadó részecskék.

1. minta: gömbölyűbb, kisebb alakok, néhány nagyobb kristály, sok kisebb, $2,5 \times 2,5 \mu\text{m}$ -es darab, diszperzebb rendszer.

2. minta: gömbölyűbb, kisebb alakok, több töredékdarab.

3. minta: még gömbölyűbb, kisebb alakok, több töredékdarab.

4. minta: még gömbölyűbb, kisebb alakok, több töredékdarab.

5. Nagyon kis részecskék, valamennyi $2,5 \mu\text{m}$ átmérő alatt; valamennyi gömbölyű, monodiszperz.

2. példa

Gyógyszerészeti készítmény

Az alábbi összetevők elegyítésével orális beadáshoz való szuszpenziókészítményt állítottunk elő.

Mikrofluidizált atovaquon részecskék	150,0 mg
Poloxamer 188	5,0 mg
Benzil-alkohol	10,0 mg
Xantán mézga	7,5 mg
Tisztított víz	1,0 ml-re

3. példa

Biológiai teszt

Kilenc önkéntes, egészséges férfiak véletlenszerű crossover vizsgálatban éhgyomorral, egy dózisban 250 mg atovaquont tartalmazó, 5 mg/ml koncentrációjú szuszpenziókat ($3 \mu\text{m}$ átlagos részecskeméretű szuszpenzióként, illetve $1 \mu\text{m}$ -os mikrofluidizált szuszpenzióként) adtunk. A vérplazmamintákat az utolsó dózis beadása után maximálisan két héttel vettük, és HPLC-vel vizsgáltuk. Az eredményeket a 2. táblázatban mutatjuk be.

2. táblázat

	$3 \mu\text{m}$ -es szuszpenzió	$1 \mu\text{m}$ -es szuszpenzió
átlagos (SD) AUC	95 (62) $\mu\text{g/ml-óra}$	247 (85) $\mu\text{g/ml-óra}$
átlagos (SD) C_{max}	1,2 (0,7) $\mu\text{g/ml}$	5,0 (1,6) $\mu\text{g/ml}$
közepes T_{max}	5 óra	1 óra

Az 1 µm-es szuszpenzió 3 µm-eshez viszonyított átlagos (95% CI) növekedése az AUC esetében 2,6-szeres (1,9–3,5), a C_{max} esetében pedig 4,1-szeres (2,5–6,6) volt.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Atovaquon, részecskék alakjában, mely részecskék legalább 95%-a 0, 1–2 µm átmérőjű.
2. Mikrofluidizált atovaquon részecskék.
3. Mikrofluidizált atovaquon részecskék, melyek legalább 95%-a 0,1–2 µm átmérőjű.
4. Gyógyszerészeti készítmény, amely atovaquon részecskéket, és egy vagy több gyógyszerészetileg elfogadható hordozót tartalmaz, s amelyben a hatóanyag-részecskék legalább 95%-a 0,1–2 µm átmérőjű.
5. A 4. igénypont szerinti gyógyszerészeti készítmény, melyben a részecskék mikrofluidizált részecskék.
6. A 4. vagy 5. igénypont szerinti gyógyszerészeti készítmény, szuszpenzió alakjában.
7. A 4–6. igénypontok bármelyike szerinti gyógyszerészeti készítmény, melyben a gyógyszerészetileg elfogadható hordozó szuszpendálószeret tartalmaz.
8. A 7. igénypont szerinti gyógyszerészeti készítmény, melyben a szuszpendálószer xantán mézga.
9. A 4–8. igénypontok bármelyike szerinti gyógyszerészeti készítmény, gyógyászatban való alkalmazásra.
10. A 4–8. igénypontok bármelyike szerinti gyógyszerészeti készítmény, protozoa élősködők okozta fertőzések, valamint *P. carinii* okozta fertőzések kezelésében és/vagy megelőzésében való alkalmazásra.
11. Eljárás a 2. vagy 3. igénypont szerinti mikrofluidizált atovaquon részecskék előállítására, *azzal jellemezve*, hogy az atovaquont folyékony vivőanyaggal elegyítjük, hogy olyan elegyet kapjunk, melyben az atovaquon koncentrációja 450 mg/ml-nél kisebb, és az emulitett elegyet legalább háromszor Microfluidiser készüléken áramoltatjuk át.
12. Eljárás gyógyszerészeti készítmény előállításra, *azzal jellemezve*, hogy
 - i) az atovaquont folyékony vivőanyaggal elegyítjük, hogy olyan elegyet kapjunk, melyben az atovaquon koncentrációja 450 mg/ml-nél kisebb;
 - ii) az elegyet legalább háromszor Microfluidiser készüléken áramoltatjuk át, hogy mikrofluidizált készítményt hozzunk létre, melyben az atovaquon részecskék formájában van jelen, és a részecskék legalább 95%-a 0,1–2 µm átmérőjű;
 - iii) a mikrofluidizált készítményt egy vagy több gyógyszerészetileg elfogadható hordozóval elegyítjük.
13. A 11. vagy 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az elegyet 10–50 alkalommal áramoltatjuk át a Microfluidiser készüléken.
14. A 13. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az elegyet 15–25 alkalommal áramoltatjuk át a Microfluidiser készüléken.
15. A 11–14. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy folyékony vivőanyagként felületaktív oldatot alkalmazunk.
16. A 15. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy felületaktív oldatként Poloxamer 188-at alkalmazunk.
17. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy gyógyszerészetileg elfogadható hordozóként szuszpendálószeret magában foglaló hordozókat alkalmazunk.
18. A 17. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy szuszpendálószerként xantán mézgat alkalmazunk.